

THESIS

DELMICH

1966

**Zur immunologischen Bestimmung
der Beta-Lipoproteide**

VOLKER BORCK

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153516_0088

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München

(Direktor: Prof. Dr. H. Schwieglk)

ZUR IMMUNOLOGISCHEN BESTIMMUNG DER BETA-LIPOPROTEIDE

Grundlagen - Methoden - Ergebnisse

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

VOLKER BORCK

aus Berlin

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. M. KNEDEL

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. SCHWIEGK

Dekan: Prof. Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 19. 4. 1966

Gliederung:

Einleitung

A Fette und Lipide im Serum

1. Fettsäuren
2. Fette
3. Lipide a) Phosphatide
 b) Cholesterin

B Lipoproteide

Kurzgefaßter Überblick über die Lipoprotein-Forschung

C Beta-Lipoproteide

1. Physikalische Eigenschaften
 - a) Löslichkeit
Farbe
 - b) Molekülgröße
 - c) Dichte
 - d) Elektrophoretisches Verhalten
2. Chemische Zusammensetzung
 - a) des Lipidanteils
 - b) des Proteinanteils
3. Immunologie
4. "Struktur"

D Experimentelle Untersuchungen

1. Angewandte Methoden
2. Die Präzipitationsreaktion
3. Spezifität
4. Reproduzierbarkeit
5. Die Menge des Immunopräzipitats
beeinflussende Faktoren
 - a) Temperatur und Zeit, sowie Einfrieren und
Auftauen des Serums
 - b) Fettbelastung ohne "EPL"-Substanz-Injektion
 - c) Fettbelastung mit
6. Anwendung des "Beta - L- Testes"
 - a) bei 64 klinisch Gesunden
 - b) bei 128 Diabetikern
 - c) bei 7 Patienten mit ess. Hyperlipämie
7. Korrelation
 - a) mit anderen Methoden zur Bestimmung
der Beta-Lipoproteide

- b) mit Methoden zur Bestimmung der Gesamt-Lipoide,
des Gesamt- und freien Cholesterins und des
Lipoidphosphors

E Zusammenfassung der Ergebnisse

F Tabellen, Abbildungen, Fotos

G Literaturverzeichnis

EINLEITUNG

Die Erforschung des Stoffwechsels der Lipoide und Lipoproteide wurde durch methodische Fortschritte in den vergangenen Jahren sehr gefördert. So konnte, unter vielen anderen Fragen, besonders häufig die Rolle der Beta-Lipoproteide und ihrer Konstituenten bei Entstehen und Fortschreiten der Arteriosklerose mit den verschiedensten Methoden untersucht werden. Mit Hilfe der Äthanolfraktionierung,^{50, 52} der präparativen Ultrazentrifugierung^{18, 19, 20} und der präparativen Elektrophorese⁴² wurden quantitative Veränderungen bei dieser Krankheit festgestellt, deren pathogenetische Bedeutung aber bis heute umstritten ist. Außer bei der Arteriosklerose wurde vor allem beim Diabetes mellitus,^{1, 12, 14, 15, 28} bei der Nephrose^{21, 37} und bei der essentiellen Hyperlipämie²⁷ und Hypercholesterinämie²⁴ das Vorkommen absolut und relativ erhöhter Beta-Lipoproteidwerte im Serum beschrieben. Aber auch bei innersekretorischen Störungen und bestimmten Erkrankungen der Leber können vermehrt Beta-Lipoproteide im Serum auftreten.⁵³

Diese Mitteilungen haben die Aufmerksamkeit der Kliniker auf die Entwicklung von Laboratoriumsmethoden gelenkt, die die Möglichkeit bieten, Veränderungen der Lipoproteide im Serum zu erfassen. Da alle anderen in diesem Forschungsgebiet gebräuchlichen Methoden für die praktischen Zwecke der Klinik zu kompliziert, zeitraubend oder teuer sind, hat sich bis heute nur die Lipoproteidelektrophorese in den klinischen Laboratorien eingeführt.

In den letzten Jahren ist nun von amerikanischen Wissenschaftlern ein Test entwickelt worden, der es ermöglichen soll, mit Hilfe eines präzipitierenden Antiserums die Lipoproteide niedriger Dichte (Beta-Lipoproteide) in kleinsten Serummengen zu bestimmen. In der vorliegenden Arbeit haben wir die Voraussetzungen der Methode, die außerdem den geringsten zeitlichen und technischen Aufwand erfordert, untersucht und die Möglichkeit ihrer klinischen Anwendung geprüft.

A. Fette und Lipide im Serum

Nach ihren gleichen Löslichkeitseigenschaften werden die funktionell verschiedenen Gruppen der eigentlichen Fette, auch Neutralfette genannt, und die fettartigen Verbindungen (Lipide im engeren Sinne) als "lipids" im amerikanischen Schrifttum zusammengefaßt. Sie sind ausnahmslos unlöslich in Wasser, löslich hingegen in organischen Lösungsmitteln wie Benzol, Äther, Chloroform oder Chloroform-Methanol-Gemischen. Obwohl die ersten Schritte der Biosynthese für beide Stoffklassen dieselben zu sein scheinen, erfüllen sie im Organismus sehr unterschiedliche Aufgaben. Während die Fette ihre biologische Bedeutung wohl vorwiegend als Reservestoffe haben, spielen die Lipide eine entscheidende Rolle für den strukturellen Aufbau der Zellen und damit für ihre Funktion. Sie sind vielfach an der Bildung von Protein-Lipoid-Doppelschichten beteiligt. Ihr Gehalt ändert sich auch bei einer mehr oder weniger weitgehenden Heranziehung der Fette zur Energielieferung wie in Hungerzeiten nur wenig.

1. Fettsäuren

Sowohl die Fette als auch die Lipide des Serums enthalten als Hauptbestandteile Fettsäuren. Nur das Cholesterin kommt, auch ohne mit Fettsäuren verbunden zu sein, im Serum vor. Der weitaus größte Teil der im Serum strömenden Fettsäuren besitzt eine unverzweigte Kohlenstoffkette und eine gerade Anzahl von Kohlenstoffatomen, da sie aus Essigsäureresten, also C_2 -Einheiten, synthetisiert werden.

Die physikalischen Eigenschaften der Fettsäuren sind abhängig von der Länge der Kohlenstoffkette und der Zahl der Doppelbindungen. Der Schmelzpunkt wie der Siedepunkt steigen mit Längerwerden der Kohlenstoffkette an und sinken mit der Einführung von Doppelbindungen ab. Auch die Konfiguration kann einen Einfluß auf die physikalischen Eigenschaften der Fettsäuren haben. Die Fettsäuren sind fast ganz unlöslich in Wasser; sie lösen sich hingegen in organischen Lösungsmitteln wie Alkohol, Aceton, Benzol und besonders gut in Äther. Unter physiologischen Bedingungen überwiegen die ungesättigten Fettsäuren, die in ihrer Kohlenstoffkette eine oder mehrere Doppelbindungen aufweisen, im menschlichen Serum. Während bei den ungesättigten Fettsäuren die Öl- und Linolsäure quantitativ im Vordergrund stehen, stellen bei den gesättigten Fettsäuren die Palmitin- und die Stearinsäure

den größten Anteil.

Neben den mit den Alkoholen Glycerin, Cholesterin und Sphingosin veresterten Fettsäuren, die über 90 % ausmachen, wurden auch geringe Mengen freier Fettsäuren im menschlichen Serum gefunden. In ihrer Zusammensetzung zeigen die freien Fettsäuren keine Unterschiede gegenüber den veresterten Fettsäuren.

2. Fette

Als Fette werden die Glycerinester der höheren Fettsäuren bezeichnet. Sie bestehen aus dem dreiwertigen Alkohol Glycerin und höheren Fettsäuren. Nach der Anzahl der mit dem Glycerin veresterten Fettsäuren unterscheidet man zwischen Mono-, Di- und Triglyceriden. Die im menschlichen Serum vorkommenden Fette bestehen praktisch nur aus Triglyceriden, obwohl auch Mono- und Diglyceride im Blut nachgewiesen worden sind.⁹

Die Emulgierbarkeit der Glyceride nimmt mit der Zahl der mit den OH-Gruppen des Glycerins veresterten hydrophoben Kohlenwasserstoffketten ab, so daß Triglyceride praktisch unlöslich in Wasser sind. Gut lösen sie sich jedoch in fast allen organischen Lösungsmitteln. Wie sich die Emulgierbarkeit der Glyceride mit dem Vorhandensein oder Fehlen von unveresterten hydrophilen OH-Gruppen ändert, werden die physikalischen Eigenschaften der Fette von den in ihnen enthaltenen Fettsäuren bestimmt.

Bei den Triglyceriden unterscheidet man zwischen einsäurigen Triglyceriden, bei denen die drei Hydroxylgruppen des Glycerins mit drei Molekülen der gleichen Fettsäure verbunden sind, zweisäurigen Triglyceriden, die zwei verschiedene Fettsäuren enthalten, und gemischtsäurigen Triglyceriden, bei denen drei verschiedene Fettsäuren vorliegen. Bei den im menschlichen Serum vorkommenden Fetten handelt es sich in der Mehrzahl um Gemische von gemischtsäurigen Triglyceriden.

3. Lipoide des Serums im engeren Sinne

a) Phosphatide, oder im amerikanischen Schrifttum "phospholipids" genannt, bilden zusammen mit den Sterinen und den nur in sehr kleinen Mengen vertretenen Steroiden und Carotinoiden die Gruppe der Serumlipoide, der wegen ihrer Löslichkeit fettähnlichen Stoffe. Chemisch stellen die Phosphatide Phosphorsäurediester dar. Die Phosphorsäure ist einerseits mit Glycerin oder Sphingosin, andererseits

mit Cholin, Colamin, Serin oder Inosit verestert. Als weiterer gemeinsamer Baustein kommt in den Phosphatiden mindestens ein Fettsäurerest im Molekül vor. Es finden sich unter den gesättigten Fettsäuren vor allem die Palmitin- und die Stearinsäure, während unter den ungesättigten die Ölsäure überwiegt. Da in den Phosphatiden bereits eine große Anzahl verschiedener Fettsäuren nachgewiesen worden ist, handelt es sich ebenso wie bei den im Serum vorkommenden Fetten nicht um einheitliche Substanzen, sondern um Gemische.

Bei den Phosphatiden des menschlichen Serums wollen wir drei Substanzgruppen unterscheiden, die quantitativ ins Gewicht fallen: die Lecithine, die Sphingomyeline und die Kephaline. Daneben sind eine Reihe weiterer Phosphatide und außerdem mehrere Plasmalogene³⁶ im Serum mit Hilfe chromatographischer Methoden nachgewiesen worden.

Die Lecithine sind die Cholinester der Diglyceridphosphorsäure. Sie besitzen demnach in ihrem Molekül vier Esterbindungen, die eine unterschiedliche Hydrolysierbarkeit aufweisen. Durch die Anwesenheit sowohl der negativen Ladung an der Phosphorsäure als auch der positiven am Stickstoff des Cholins, zeigen die Lecithine den Charakter von Dipolen, was für die Bildung von Strukturen von besonderer Bedeutung ist. Wie alle stickstoffhaltigen Glycerinphosphatide besitzen sie das charakteristische Verhältnis von Stickstoff zu Phosphor wie 1 : 1.

Die Kephaline sind ebenfalls Glycerinphosphatide, sie unterscheiden sich aber von den Lecithinen durch ihren stickstoffhaltigen Baustein. Sowohl das Colamin-Kephalin wie das Serin-Kephalin enthalten im Gegensatz zum Cholin ihren Stickstoff in Form von Aminostickstoff ($-NH_2$), der nach van Slyke bestimmt werden kann. Das Serin-Kephalin besitzt gegenüber dem Colamin-Kephalin zwei saure Valenzen und eine basische Gruppe, so daß es sauer reagiert. Die Kephaline unterscheiden sich auch in der Zusammensetzung des jeweiligen Fettsäuregemisches untereinander und von den Lecithinen.

Wie die Lecithine enthalten die Sphingomyeline den Cholinester der Phosphorsäure als Baustein. Die Phosphorsäure ist aber nicht mit einem Diglycerid, sondern mit der primären Alkoholgruppe des Sphingosins verestert. Als Fettsäuren wurden in den Sphingomyelinen bisher vor allem Stearin- und Lignocerinsäure gefunden. Die Substanz ist in Chloroform-Methanol leicht, in Aceton und Äther unlöslich.

Wegen ihres Phosphorgehaltes werden die Spingomyeline mit den Glycerinphosphatiden zu der Gruppe der Phosphatide zusammengefaßt. Im Vorkommen und in der Biosynthese sind sie jedoch stark voneinander unterschieden.

b. Cholesterin

Das Cholesterin gehört zu der Gruppe der Sterine. In Bezug auf seine chemische Struktur weist es keinerlei Verwandtschaft zu den anderen Lipoiden auf, zu denen es nur auf Grund seines ähnlichen Löslichkeitsverhaltens gerechnet wird. Es ist löslich in Lipoidlösungsmitteln wie Äther, Alkohol und Chloroform und außerdem in Aceton, wodurch es von den Phosphatiden getrennt werden kann. Das Cholesterin stellt einen einwertigen, sekundären, hochmolekularen Alkohol dar, der sich von dem aromatischen Kohlenwasserstoff, dem Steran, ableitet.

Für klinische Zwecke unterscheidet man zwischen Gesamtcholesterin, freiem Cholesterin und verestertem Cholesterin. Unter den Estersäuren des Cholesterins findet man in der Reihenfolge ihres prozentualen Anteils die Linol-, die Öl-, die Palmitin- und die Arachidonsäure. Während die Fette und Phosphatide als Hauptbestandteil Fettsäuren enthalten, kann Cholesterin, auch ohne mit Fettsäuren verbunden zu sein, im Serum vorkommen. Der Anteil des freien Cholesterins am Gesamtcholesterin ist ziemlich konstant, er beträgt im gesunden menschlichen Serum zwischen 30 und 40 %. Das Molekulargewicht des Cholesterins liegt bei 386,64, die Jodzahl beträgt 65,7.

Die Unlöslichkeit der Fette und Lipide im wässrigen Milieu macht ein besonderes Transportsystem erforderlich. Es gilt heute als erwiesen, daß die Fettsäuren, Fette und Lipide des menschlichen Serums nicht frei als solche vorkommen, sondern in Form leicht wasserlöslicher Protein-Lipoid-Komplexe.

B. Lipoproteide

Im Plasma des gesunden Erwachsenen finden sich etwa 6,7 bis 8 g % Eiweiß,⁵¹ von denen etwa 10 % (nach Oncley 12 bis 15 %) Lipoproteide sind. Davon entfallen wiederum 4 % auf die Alpha- und 5 bis 6 % auf die Beta-Lipoproteidfraktion. Mit den typischen Proteinen haben die Lipoproteide bemerkenswerterweise ihre Löslichkeit in Wasser und bestimmten Salzlösungen gemeinsam. Während aber Fette und Lipide leicht in organischen Lösungsmitteln gelöst werden können, gehen die Lipoproteide

erst nach Vorbehandlung mit Alkohol in Lösung. Wie die Proteine haben sie amphoteren Charakter, d.h. sie besitzen die Fähigkeit, sich sowohl mit Säuren als auch mit Basen zu verbinden. In der Elektrophorese und Ultrazentrifuge verhalten sie sich wie typische Proteine, d.h. sie wandern auf Grund ihrer Ladung in einem elektrischen Feld und haben ein Molekulargewicht in der Größenordnung der Proteine. Unterschieden sind sie von den einfachen Proteinen durch ihr niedriges spezifisches Gewicht und ihre Hydratation. Während das spezifische Gewicht der meisten Plasmaeiweißkörper zwischen 1,26 g und 1,38 g pro Milliliter liegt, findet man bei dem Gros der Lipoproteide ein spezifisches Gewicht zwischen 0,98 g und 1,15 g pro Milliliter.

Sind schon die einfachen Proteine aus ihrem nativen Zustand (d.h. aus dem Zustand, in dem sie im Organismus vorliegen) durch verhältnismäßig einfache Eingriffe wie Schütteln, Hitzeeinwirkung, Bestrahlung, durch verdünnte Säuren und Basen denaturierbar, so reagieren die Lipoproteide des Serums bereits auf Wasserentzug oder Gefriertrocknung mit Denaturierung.

Im menschlichen Serum lassen sich vier Gruppen von Lipoproteiden unterscheiden: das sind die Chylomikronen, die Alpha- und Beta-Lipoproteide und die Verbindung von Albumin mit nicht veresterten Fettsäuren.

Kurzgefaßter Überblick über die Entwicklung der Lipoproteidforschung

Die Existenz von Protein-Lipoid-Komplexen ist bis heute auf viele Arten nachgewiesen worden. Als erster machte Nerking⁴¹ auf eine Verbindung zwischen Lipoiden aus Serum oder Plasma und Proteinen aufmerksam. Er hatte beobachtet, daß die Serumlipotide mit Äther nicht quantitativ zu extrahieren waren; wesentlich mehr Fett ließ sich mit Äther ausschütteln, wenn das Serum mit Pepsin und Salzsäure vorbehandelt wurde. Die später auch von anderen geäußerte Vermutung, daß zwischen Plasmalipoiden und Plasmaproteinen eine irgendwie geartete Verbindung bestehen müsse, bestätigte sich erst 1929, als es Macheboeuf³⁹ durch Säurefällung von Pferdeplasma gelang, eine mehr oder weniger gereinigte Proteinfraction zu isolieren, die Lipotide enthielt und trotz ihres Lipoidreichtums wasserlöslich war. Blix, Tiselius und Svensson⁵ zeigten zwölf Jahre später, daß ein ähnliches Präparat in der freien Elektrophorese in zwei Teile aufgetrennt wurde: der eine wanderte mit den Alpha-Globulinen, der andere mit den Beta-Globulinen. Sie konnten ausserdem demonstrieren, daß die Alpha- und Beta-Globuline im Serum als Träger für das im Blut strömende Cholesterin und die Phosphatide dienen. Damit war eine Transportfunktion dieser Proteine erwiesen.

Die Cohn'sche¹¹ Schule bereicherte 1940 die Methodik der Eiweißchemie durch die Einführung der Äthanolfällung bei niedrigen Temperaturen, wodurch Fraktionen erhalten wurden, die im wesentlichen zwei deutlich charakterisierbare Lipoproteidklassen enthielten: eine im Bereich der Alpha₁-Globuline und eine mit den Beta-Globulinen wandernde. Die Entdeckung Pedersens⁴⁷ (1945), daß Lipotide enthaltende Proteine in der präparativen Ultrazentrifuge an der Oberfläche der Kammer angereichert werden können, führte zu den Isolierungsmethoden von Gofman²² und zu der Anwendung der analytischen Ultrazentrifuge zur Bestimmung der Serumlipoproteide. Trennungsmethoden mit Hilfe der Zonenelektrophorese auf Papier und Stärke wurden durch Swahn⁵⁷ bzw. Kunkel³⁰ eingeführt. Burstein,⁷ Oncley und Mitarb.⁴⁴ und Bernfield und Mitarb.⁴ haben Fällungsmethoden mit verschiedenen sulfatierten Polysacchariden angegeben. Carlson⁸ bediente sich zur Trennung der Lipoproteide einer chromatographischen Methode, wobei er Glaspudersäulen verwendete. Schließlich wurden in jüngster Zeit qualitative und quantitative Methoden aus-

gearbeitet, um mit Hilfe präzipitierender Antiseren Lipoproteide zu bestimmen.^{10, 25}

Erst als mit den genannten Methoden genügend schonende Verfahren zur Verfügung standen, um die empfindlichen und instabilen Lipoproteide zu untersuchen, konnten die in folgendem zusammengetragenen Befunde gesammelt werden. Ein Lipoprotein in wirklich reinem Zustand darzustellen, ist bis heute nicht gelungen.

C. Beta-Lipoproteide

Die Beta-Lipoproteide umfassen die Lipoproteide niedriger Dichte zwischen $D = 0,98$ und $D = 1,063$ bzw. die Flotationsklassen S_f 0 - 400, die papierelektrophoretisch als Beta-Lipoproteide definiert sind.⁴⁹

1. Physikalische Eigenschaften

a) Die Beta-Lipoproteide sind sehr gut wasserlöslich und lassen sich auch auf Grund ihrer Löslichkeitseigenschaften von den Alpha-Lipoproteiden abtrennen (Äthanolfraktionierung). Die Lösungen der S_f -Gruppen 12 - 400 sind opaleszent durch den erhöhten Prozentsatz von Triglyceriden; die Lösungen der S_f -Klassen 0 - 12 sind durchscheinend und durch Carotin gelb gefärbt.

b) Der Durchmesser der Beta-Lipoproteide der S_f -Klasse 0 - 10 beträgt $200 \text{ \AA}$, für die S_f -Klasse 400 etwa $700 \text{ \AA}$. Das Molekulargewicht liegt bei 10^6 für die S_f -Klasse 6 und bei 10^8 für die S_f -Klasse 400.⁵⁵ Demgegenüber haben die Alpha-Lipoproteide niedrigere Molekulargewichte. Nach Shore, B., kommt der HDL_3 -Fraktion ein Molekulargewicht von 200 000, der HDL_2 -Fraktion ein solches von 400 000 zu.

Die aus den Ergebnissen der Röntgenanalyse erhaltenen Dimensionen verschiedener Serumproteine sind in Abbildung 1 den Größenverhältnissen eines Beta-Lipoproteids gegenübergestellt.³⁵

c) Durch den Unterschied in der Größe und im Molekulargewicht der Beta-Lipoproteide kommt es auch zu einer unterschiedlichen Dichte dieser Fett-Eiweiß-Komplexe. Die Dichte wird mit wachsender Größe und steigendem Molekulargewicht geringer. Daraus ergibt sich das für die Lipoproteidfraktionierung sehr leistungsfähige Verfahren der Ultrazentrifugierung. Bei einer Dichte des Lösungsmittels von $1,063 \text{ g pro ml}$ erscheinen an der Oberfläche die sogenannten "low density lipoproteins", die den Flotationsklassen S_f 0-400 bzw. den Beta-Lipoproteiden entsprechen.

Die mit der präparativen Ultrazentrifuge isolierten Beta-Lipoproteide können in der analytischen Ultrazentrifuge nach der Technik von Gofman³³ weiter untersucht werden. Diese Technik erlaubt, die Lipoproteide nach ihrer Flotationsrate zu charakterisieren, d.h. nach der Geschwindigkeit, mit der sie sich an die Oberfläche

bewegen. Diese Geschwindigkeit der Flotation bei einer Dichte des Mediums von 1,063 drückt man für die Beta-Lipoproteide in Svedberg-Einheiten aus.

Die Beta-Lipoproteide erweisen sich bei der Anwendung der analytischen Ultrazentrifugierung als sehr heterogen. Man unterscheidet vier Klassen abnehmender Dichte:

Die S_f -Klasse 0 - 12, die S_f -Klasse 12 - 20, die S_f -Klasse 20 - 100 und die S_f -Klasse 100 - 400, deren gegenseitiges Verhältnis selbst bei Personen gleichen Alters und gleichen Geschlechts verschieden ist, und die in Konzentrationsangaben eine ungleiche Verteilung im Serum aufweisen. Die Flotationsklasse S_f 0 - 12, die etwa 60 % ausmacht, ist in der Fraktion der präparativen Ultrazentrifugierung enthalten, die bei einer Dichte des Mediums von 1,019 bis 1,063 erhalten wird. Die S_f -Klasse 12 bis 20 (etwa 10 %) liegt in der präparativen Fraktion zwischen der Dichte 1,006 und 1,019, die S_f -Klasse 20 bis 400 (etwa 30 %) findet sich in der präparativen Fraktion, die man bei einer Dichte zwischen 0,96 und 1,006 gewinnt.

d) Zu den physikalischen Eigenschaften der Beta-Lipoproteide gehört ihre Beweglichkeit in einem elektrischen Feld. Bei der freien Elektrophorese wandern die Lipoproteide des Serums in zwei nach der Geschwindigkeit unterscheidbaren Fraktionen, der schneller wandernden Alpha-Fraktion und der langsamer wandernden Beta-Fraktion. Werden die Beta-Lipoproteide der Zonenelektrophorese unterworfen, so ist ihre Wanderungsgeschwindigkeit abhängig vom Trägermedium:

Im Agar gel zeigen die Beta-Lipoproteide die Beweglichkeit von Alpha-Globulinen.⁵⁹

Im Stärkeblock wandern die S_f -Klassen >12 mit den Alpha_2^- , die Lipoproteide der S_f -Klassen <12 mit den Beta-Globulinen.³¹ Die Papierelektrophorese läßt zwei verschieden intensiv gefärbte Fraktionen der Beta-Lipoproteide erkennen: die schwächer gefärbte Fraktion bleibt in der Umgebung der Startlinie liegen, während die stärker gefärbte anodenwärts mit der Beta-Globulinfraktion wandert.

2. Chemische Zusammensetzung der Beta-Lipoproteide

a) Chemische Zusammensetzung des Lipoidanteils der Beta-Lipoproteide

Die Beta-Lipoproteide lassen sich von den Alpha-Lipoproteiden unter anderem auf Grund ihrer unterschiedlichen Löslichkeitseigenschaften trennen. Bei der Äthanolfraktionierung nach Cohn¹¹ finden sich die Lipoproteide konzentriert in zwei Haupt-

gruppen, den Fraktionen IV und V und den Fraktionen I und III. Bei den in den Fraktionen IV und V enthaltenen Lipoproteiden handelt es sich um Alpha-Lipoproteide, in den Fraktionen I und III um Beta-Lipoproteide. Die mit dieser Technik gewonnenen Alpha- bzw. Beta-Lipoproteinpräparate setzen sich im Mittel wie folgt zusammen:

Alpha-Lipoproteide:	4 % (3 bis 5,5 %)	des gesamten Plasmaeiweißes
	65 % Proteine	
	35 % Lipide	(davon 12 % Cholesterin und 23 % Phosphatide)
Beta-Lipoproteide:	5,5 % (4,4 bis 7,1 %)	des gesamten Plasmaeiweißes
	25 % Proteine	
	75 % Lipide	(davon 45 % Cholesterin und 30 % Phosphatide)

Unter physiologischen Bedingungen finden sich an die Beta-Lipoproteide "gebunden" etwa 70 % des Cholesterins, 30 % sind in den Alpha-Lipoproteiden enthalten.¹³ Das Verhältnis von unverestertem Cholesterin und Gesamtcholesterin liegt in den Beta-Lipoproteiden höher als in der Alpha-Lipoproteinfraktion.²

In guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Äthanolfraktionierung fand Nikkilä⁴² in Lipoproteinfraktionen, die mittels der Papierelektrophorese gewonnen wurden, rund 25 % des Serumcholesterins in der schnell wandernden und 75 % in der langsam wandernden Lipoproteinfraktion. Durchschnittlich 55 % der Phosphatide finden sich papierelektrophoretisch bei Gesunden in der Beta-Lipoproteinfraktion. Entsprechend liegt der Quotient Cholesterin/Phosphatide mit 0,5 in der HDL₃-Fraktion niedrig gegenüber einem Quotienten von 1,4 in der S_f-Klasse 0 - 12 der Beta-Lipoproteide. Über die Verteilung der Lipide in den Unterfraktionen der Beta-Lipoproteide gibt die Analyse der durch die präparative Ultrazentrifugierung erhaltenen Fraktionen Auskunft. Die Gegenwart von Lipiden verleiht den Lipoproteiden eine niedrigere Dichte, als sie die anderen Proteine besitzen. Die Lipoproteide können daher in einem geeigneten Milieu selektiv zur Flotation gebracht werden. Dabei ist die kritische Dichte, von der ab die Flotation möglich wird, nicht für alle Lipoproteide dieselbe. Bei

einem präparativen Ultrazentrifugenlauf bei einer Dichte von 1,063 werden die Beta-Lipoproteide insgesamt zur Flotation gebracht, bei einem Zentrifugenlauf bei der Dichte von 1,210 flutieren alle Alpha-Lipoproteide. Diese beiden Fraktionen sind nicht einheitlich; durch 5 aufeinanderfolgende Ultrazentrifugenläufe bei der Dichte 1,006, 1,019, 1,063, 1,125 und 1,210 kann man 3 Unterfraktionen der Beta-Lipoproteide (D bis 1,006; D 1,006 bis 1,019; D 1,019 bis 1,063) und 2 Unterfraktionen der Alpha-Lipoproteide (D 1,063 bis 1,125; D 1,125 bis 1,210) abtrennen. Nach Gofman kann die Unterteilung der Lipoproteide darüber hinaus so weit getrieben werden, daß sich ein ganzes Spektrum von verschiedenen Lipoproteiden, vielleicht 100 Klassen von unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften, definieren läßt. Die Tabelle 1 zeigt die chemische Komposition der genannten 5 Unterfraktionen, außerdem die der Chylomikronen und des Komplexes aus Albumin und unveresterten Fettsäuren. Aus Tabelle 1 geht hervor, daß ein ziemlich enger Zusammenhang besteht zwischen der Dichte der Lipoproteide und ihrem Gehalt an Proteinen. Der Anteil der Triglyceride steigt an mit dem S_f -Wert, wobei das Cholesterin und die Phosphatide abfallen. Das Verhältnis von Cholesterin zu den Phosphatiden steigt bei den Beta-Lipoproteiden mit der Abnahme des S_f -Wertes.

b. Chemische Zusammensetzung des Proteinanteils der Beta-Lipoproteide

Weniger gut erforscht ist hingegen der Aufbau des Proteinanteils der Lipoproteide. Die Analyse der N-terminalen Aminosäuren hat gezeigt, daß die verschiedenen Klassen der Lipoproteide nicht denselben Proteinanteil enthalten. In den Alpha-Lipoproteiden findet man die Asparaginsäure als N-terminale Aminosäure, in den Beta-Lipoproteiden der Dichte 1,019 bis 1,063 die Glutaminsäure.⁵⁶ Shore postuliert für das Beta-Lipoprotein der Dichte 1,03 zwei wahrscheinlich identische N-Glutaminsäure-C-Serin-Peptidketten mit einem Molekulargewicht von 380 000 jeweils. In den Beta-Lipoproteiden der Dichte $\leq 1,006$ ermittelte er eine N-Serin-C-Alanin-Peptidkette von einem Molekulargewicht von etwa 12 000. Die immunologische Analyse hat erwiesen, daß die Antigenität der Beta-Lipoproteide an ihren Proteinanteil gebunden ist.

3. Immunologie der Beta-Lipoproteide

Es herrscht Einigkeit darüber, daß der Proteinanteil der Beta-Lipoproteide in seinem Verhalten als Antigen unterschieden ist von dem Antigenverhalten der Alpha-Lipoproteide oder der Chylomikronen. Die Meinungen divergieren jedoch, was die Antigenhomogenität der S_f -Unterklassen innerhalb der Beta-Lipoproteide betrifft. Mit quantitativen Präzipitationsmethoden, Komplementfixation und Geldiffusionstechniken fanden Levine, Kaufman und Brown sowie Aladjem, Lieberman und Gofman, daß die verschiedenen S_f -Klassen der Lipoproteide niedriger Dichte immunologisch nicht voneinander unterscheidbar sind. Diesem Befunde widersprachen Ergebnisse von Rodbell, der zusätzliche Aminosäure-Endgruppen in den Flotationsklassen S_f 10-400 gefunden hat, die in den S_f -Gruppen 3 - 9 nicht vorhanden sind. Demgegenüber kamen Briner, Riddle und Cornwell mit der Hämagglutinationstechnik von Boyden zu dem Ergebnis, daß gerade die S_f -Gruppe 3 bis 9 ein oder mehrere Antigene zusätzlich enthält, die den Flotationsklassen 10 bis 400 fehlen.

Walton und Darke⁶⁰ überprüften die Befunde von Briner und Mitarbeitern und fanden keine Unterschiede hinsichtlich der Antigeneigenschaften zwischen den Lipoproteiden niedriger Dichte (Beta-Lipoproteiden). Die von Briner und Mitarbeitern erhaltenen Befunde könnten nach ihrer Meinung durch unvollständige Kreuzabsorption zu erklären sein.

4. "Struktur" der Beta-Lipoproteide

Die Existenz von Protein-Lipoid-Komplexen ist durch viele Untersucher und auf viele Arten nachgewiesen worden. Wie diese Bindung von Lipoiden an Eiweiß aber stattfindet, ist bis heute noch weitgehend ungeklärt. Verschiedene Modelle wurden vorgeschlagen; Florsheim und Morton¹⁷ denken an eine Micellarstruktur, die durch elektrostatische Kräfte zusammengehalten wird. Sie nehmen einen Komplex aus einem Trägerprotein einerseits und einer aus Cholesterin, Cholesterinestern, Neutralfetten, Phosphatiden und Fettsäuren bestehenden gemischten Micelle andererseits an. Nach Per Ekwall⁴⁸ können durch das Vorhandensein oder die Bildung von Hohlräumen Moleküle der zu transportierenden Substanz eingeschlossen werden, ohne dabei an die einschließenden Moleküle durch echte Bindungen gebunden zu sein.

Da Covalenzbindungen - es wäre dabei wohl an peptidartige Bindungen zwischen Aminosäuren und den Basen der Phosphatide zu denken - bisher nicht nachgewiesen worden sind und auf Grund verschiedener Untersuchungen zumindest keine quantitativ ins Gewicht fallende Rolle spielen, nimmt auch Oncley⁴⁵ in erster Linie labile Bindungen an. Diese sollen zwischen polaren ionisierten Gruppen der Lipide, vor allem der Phosphatide, und den dissoziierten Aminosäuregruppen der Peptide, insbesondere der Serin- und Threoninreste vorliegen. Die Bedeutung der Phosphorsäuregruppe der Phosphatide für die Bindung an das Proteinmolekül, auf die schon Macheboeuf hingewiesen hatte, geht besonders deutlich aus dem Modell von Zöllner⁶³ hervor, siehe Abbildung 2. Die Phosphatide fungieren als Lösungs-"Vermittler", indem sie mit ihren ionisierten polaren Gruppen (durch elektrostatische Kräfte oder Löslichkeitsphänomene) an das Eiweiß gebunden sind und mit ihrem lipophilen Anteil Neutralfette, Cholesterinester und freies Cholesterin in Lösung bringen. Diese Lösung der nicht-polaren Lipide in dem nicht-polaren Anteil der ionisierten Lipide, die die Voraussetzung zur Bildung von Lipoproteidstrukturen darstellt, wird im Zöllnerschen Modell a durch die Phosphatide vermittelt. Eine zweite mögliche Anordnung nach Zöllner zeigt an der Oberfläche des Eiweißmoleküls Fettsäuren der Phosphatide durch ihre Löslichkeit in den aliphatischen und aromatischen Seitenketten des Eiweißes (z. B. Valin, Phenylalanin) festgehalten. Die freibleibenden Fettsäureketten der Phosphatide stellen eine lipophile Schicht dar, in der Neutralfette, Cholesterin in freier und veresterter Form und seltenere Lipide gelöst werden können. Zöllner weist darauf hin, daß sein Modell analog dem von Schmitt für die Struktur der Markcheiden der Nervenfasern aufgestellten Schema ist, in dem die Schichten von Protein und Lipiden abwechseln und deren Zusammenhalt abwechselnd durch elektrostatische Kräfte (Protein-Lipoid-Grenzschicht) und Löslichkeit (Lipoid-Lipoid-Schicht) gewährleistet sein soll. Auch die von Parpart und Ballentine angestellten Betrachtungen über die Bindung der Lipide in der Erythrocytenmembran entsprechen dem Anordnungsprinzip des Zöllnerschen Modells.

Während es nach Gofman eine ganze Skala physikalisch-chemisch definierter Lipoproteidmoleküle geben soll, lehnt Zöllner auf Grund seines Modells, das sich auf Untersuchungen von Maurer und Müller, Kunkel und Bearn, Florsheim und

Morton, Macheboeuf, Hagerman und Gould, Lever und eigene Befunde stützt, die Existenz eines Lipoproteidmoleküls ab. Er kommt zu dem Schluß: die Lipide sind im Plasma durch die Vermittlung der Proteine gelöst. Die zu dieser Lösung notwendigen Aggregate werden Lipoproteide genannt.

D. Experimentelle Untersuchungen über eine Methode zur

Bestimmung der Beta-Lipoproteide im Serum

Grant und Berger²³ war es 1954 gelungen, durch Immunisierung von Kücken ein Antiserum gegen Human-Beta-Lipoproteide zu gewinnen. Seitdem blieb nur noch das technische Problem zu lösen, eine auf der Präzipitationsreaktion basierende Bestimmungsmethode für die Beta-Lipoproteide im Serum zu entwickeln, die quantitative Aussagen ermöglicht und dabei schnell und leicht durchführbar ist.

Nachdem erste immunochemische Analysen der menschlichen Beta-Lipoproteide unter Verwendung von Ziegenantiserum durchgeführt worden waren,¹⁰ konnte auf Grund des Vorschlags von Fisk, das Volumen des spezifischen Präzipitats nach Zentrifugieren in einer Kapillare zu messen, der "Beta-L-Test"⁺ als Schnellmethode entwickelt werden. Heiskell,^{25,26} Berquist,³ Searcy⁵⁴ und deren Mitarbeiter haben mit Hilfe der sogenannten Immunokritmethode Untersuchungen angestellt, wobei sie unterschiedliche Antiseren verwendet haben.

Der von uns untersuchte "Beta-L-Test" erfordert einen Tropfen Patientenserum als Testsubstanz. Folgende Gebrauchsanweisung ist der Testpackung beigegeben:

1. Angewandte Methoden

"Mit beigegebener Tropfpipette werden 2 Tropfen des präzipitierenden Anti-Beta-Lipoproteid-Serums auf das Oval einer Testkarte gegeben. Ein Tropfen Patientenserum wird unter Benutzung eines der größeren, unmarkierten Kapillarröhrchen dazugegeben. Die Aufnahme des Patientenserums in die Kapillare geschieht mittels Saugbällchens. Beim Auftragen des Patientenserums ist das Kapillarröhrchen

+ Hersteller: Hyland Laboratories, Los Angeles, USA. Vertrieb in Deutschland: Travenol International GmbH, Mü 19, Nymphenburger Straße 156

"Beta-L-Test" und "Immunokrit" sind Warenzeichen der Hyland Laboratories, Los Angeles, USA

senkrecht über die Testkarte zu halten! Mittels horizontal gehaltenen Zahnstochers oder Holzstäbchens ist durch 10 - 12 kreisförmige Bewegungen das Beta-L-Reagens mit dem Patientenserum gut zu mischen und über das Oval der Testkarte auszustreichen. IMMUNOKRIT-Röhrchen am markierten Ende anfassen und bis zur Marke füllen. Die IMMUNOKRIT-Kapillare füllt sich am einfachsten und selbständig, wenn sie kreisförmig und im Winkel von 45° über die Testkarte bewegt wird. Zwecks Versiegelung der IMMUNOKRIT-Kapillare wird das Ende über der Marke an den Rand einer Bunsenflamme gehalten. Kapillare ist unbedingt horizontal zu halten! Selbstverständlich können die Kapillaren, auch ohne Flammenversiegelung, durch Kunststoff- oder Gummistöpsel vor dem Auslaufen bewahrt werden.

Versiegelte Kapillare(n) nun, mit Siegelstelle in Richtung Fliehkraft, 5 Minuten lang zentrifugieren (z. B. Mikro-Kapillar-Zentrifuge). Länge der Präzipitatsäule unter dem Ablesegerät auf 0,1 mm Genauigkeit ablesen."

Für unsere Untersuchungen bedienen wir uns weiter folgender Methoden:

Mikromethode zur Bestimmung der Gesamtlipoide im Serum⁵⁸

Ein Elektrophoresestreifen wird in fünf 3 cm breite Felder eingeteilt. Mit Hilfe einer Pipette werden 0,02 ml Serum auf das erste Feld des mit Pufferlösung getränkten Filterpapierstreifens aufgetragen. Auf das zweite Feld werden 0,02 ml eines anderen zu untersuchenden Serums pipettiert. Auf Feld 3 und 4 werden 0,01 bzw. 0,02 ml einer 1 %igen Trioleinlösung aufgebracht. Das fünfte Feld dient als Leerwert. Der Streifen wird getrocknet und drei Stunden in einer 1 %igen Cereschwarz-Lösung gefärbt. Anschließend wird der Streifen in 50 %igem Äthanol gewaschen, bis der Untergrund schön hell erscheint. Der Streifen wird im Dunkeln getrocknet. Die einzelnen Felder werden in feine Streifen geschnitten, in ein Reagenzglas eingefüllt und mit 5 ml Eisessig-Alkohol (20 % Eisessig und 80 % abs. Alkohol) wird die Farbe eine Stunde eluiert. Bei Filter 570 m μ und 1 cm Schichtdicke wird die Analysenlösung gegen das "Leereluat" photometriert. Die beiden Extinktionswerte der Eluate der mit Triolein beschickten Felder entsprechen einer 500 mg %igen bzw. einer 1000 %igen Lösung und dienen als Eichwerte.

Lipoproteidelektrophorese auf Filterpapier⁵⁷

Auf einem Filterpapierstreifen (Whatman No 1) wurden 0,015 bis 0,03 ml des zu untersuchenden Serums aufgetragen. Die Trennung der Lipoproteide erfolgte bei horizontal gelagertem Streifen, der mit seinen Enden in 0,1 molaren Michaelis-puffer mit einem pH von 8,6 eintauchte. Trennzeit 14 Stunden, Spannung 110 Volt. Nach Trocknung des Streifens wurde 3 Stunden in 1 %iger Ceresschwarz-Lösung gefärbt. In 50 %igem Alkohol wurde der Streifen anschließend gewaschen, bis der Untergrund schön hell erschien. Mit Hilfe des selbstregistrierenden Extinktions-schreibers (Fa. Carl Zeiss) wurden die Streifen densitometrisch ausgewertet. Da es, auch unserer Beobachtung nach, nicht möglich ist, konstant reproduzierbare Untergruppen der Beta-Lipoproteide abzutrennen, haben wir lediglich eine Alpha-Lipoprotein- und eine Beta-Lipoproteinfraktion unterschieden. Nur wenn es auf das Muster der Lipoproteidelektrophorese ankam, wurde die Verteilung innerhalb der Beta-Lipoproteinfraktion beschrieben. Diese zeigt normalerweise eine schwächer gefärbte Fraktion in der Umgebung der Startlinie und eine intensiver gefärbte, die anodenwärts mit der Beta-Globulinfraktion wandert.

Gesamtcholesterin und freies Cholesterin im Serum^{61,62}

Prinzip: Cholesterin und Cholesterinester geben mit Eisen-III-Ionen und konzentrierter Schwefelsäure eine rote Farbe (Reaktion nach Bernille).

Reagentien: 1. Digitoninlösung: 1 g Digitonin wird in einem Kolben mit 50 ml Äthanol gelöst. Auffüllen mit Aqua dest. ad 100 ml.

2. Eisenstammlösung: 2,5 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ werden in 25 ml Eisessig gelöst. Die Lösung wird im Gefrierfach aufbewahrt und zum Gebrauch aufgetaut.

3. Farbreagenz: 1 ml Eisenstammlösung wird in einen 100 ml Kolben pipettiert. Unter ständigem Umschwenken füllt man bis zur Marke mit Schwefelsäure auf. (Verwerfen, wenn sich irgendein Niederschlag bildet!)

4. Cholesterinstandardlösung: Man löst 100 mg, 200 mg und 300 mg reines trockenes Cholesterin in 100 ml Eisessig.

Aufstellen einer Eichkurve: 1 ml der 100 mg %igen, 1 ml der 200 mg %igen und 1 ml der 300 mg %igen Cholesterinstandardlösung werden wie die zu analysierende Probe behandelt (s. unten).

Analyse der Probe: In einen 25 ml Kolben gibt man etwa 10 ml eines 1 : 1 Gemisches Alkohol-Aceton. Unter kräftigem Umschwenken pipettiert man 1 ml Serum in die Mischung und bringt sie in einem heißen Wasserbad zum Kochen. Dabei muß man ständig schütteln, während man erhitzt, um das Rausspritzen zu vermeiden. Dann kühlt man ab und füllt bis zur Marke mit Alkohol-Acetonlösung auf. Durch ein weiches Filter (Schwarzband 589, $\varnothing$ 11 cm) filtrieren und den Trichter mit einem Uhrglas bedecken, um Verdunsten zu vermeiden.

2,5 ml vom Filtrat werden in ein Reagenzglas bzw. in ein Zentrifugenglas pipettiert. Die Gläser werden in ein heißes Wasserbad gestellt. Man dampft in dem Reagenzglas bis zur Trockene ein, in dem Zentrifugenglas bis auf 0,5 - 1 ml.

Gesamtcholesterin: 2 ml Eisessig werden in das Reagenzglas pipettiert, das den trockenen Rückstand enthält. Man erwärmt etwa 30 Sekunden in einem Wasserbad bis sich der Rückstand vom Glas löst. Dann werden 2 ml Farbreagenz dazugegeben. Nach kräftigem Durchmischen läßt man abkühlen und mißt die Absorption in 1 cm Schichtdicke und bei Filter 546 m μ .

Freies Cholesterin: 1 ml einer 1 %igen Digitoninlösung wird dem auf 0,5 - 1 ml eingedampften Inhalt des Zentrifugenglases zugesetzt. Man wartet 10 Minuten und zentrifugiert dann bei 3500 U/min. für 10 Minuten. Der Überstand wird dekantiert, und das umgedrehte Zentrifugenglas wird einige Minuten auf Filterpapier getrocknet. Man gibt 4 ml Aceton in das Zentrifugenglas, um das Präzipitat zu zerstreuen. Nun wird umgeschüttelt, wieder 10 Minuten bei 3500 U/min. zentrifugiert, dekantiert und das umgedrehte Zentrifugenröhrchen auf Filterpapier getrocknet. Nach Zugabe von 3 ml Eisessig wird einige Sekunden, wenn nötig im Wasserbad, erwärmt, um das Präzipitat aufzulösen. Jetzt setzt man 2 ml Farbreagenz zu, mischt die Lösung durch, kühlt ab und mißt die Absorption in 1 cm Schichtdicke und bei Filter 546 m μ .

Lipoidphosphor im Serum^{16, 29}

Prinzip: Die Phosphatide werden mit Alkohol aus dem Serum extrahiert und durch Schwefelsäure und Wasserstoffsuperoxyd zu Phosphorsäure oxydiert. Die Phosphorsäure bildet mit Molybdänsäure komplexe Phosphormolybdänsäure, die durch Reduktion in Molybdänblau übergeht. Reagentien: 96 %iger redestillierter Alkohol (auch ver-

gällter Alkohol ist verwendbar).

Benzol zur Analyse

Konz. Schwefelsäure ($D = 1,84$) zur Analyse

30 %ige Wasserstoffsuperoxydlösung

0,4 %ige Ammoniummolybdatlösung

Aminonaphtholsulfosäure-Reagenz

Analyse der Probe: In ein Kölbchen von 10 ccm Inhalt, das etwa 3 ccm Alkohol enthält, pipettiert man 0,1 ccm Serum unter kräftigem Schütteln und mehrmaligem Nachspülen der Pipette mit Alkohol. Nach 5 Minuten filtriert man durch ein mit Benzol entfettetes Filter von 55 mm Durchmesser (Schleicher und Schüll Nr. 589) in ein Mikrobecherglas von 10 ccm Inhalt und spült dreimal mit je etwa 1,5 ccm Alkohol nach. Der Alkohol wird bei 80°C im Sandbad restlos abgedampft. Der trockene Rückstand wird bei Zimmertemperatur in etwa 4 ccm Benzol aufgenommen, die Lösung wird durch ein entfettetes Filter in einen Kjeldahlkolben von 25 ccm Inhalt filtriert. Das Filter wäscht man zweimal mit je 3 ccm Benzol nach und dampft dann das Lösungsmittel im Sandbad bei 100°C ab, wobei eine Kondensation von Benzol durch langsames Abkühlen vermieden werden muß. Der völlig trockene Rückstand wird mit genau 0,3 ccm konz. Schwefelsäure versetzt und unter dauerndem gleichmäßigem Schütteln über freier Flamme wenige Minuten bis zur Abscheidung von Kohlenstoff erhitzt. Zur vollständigen Oxydation fügt man sodann 2 Tropfen Wasserstoffsuperoxydlösung hinzu, ohne die Wandung des Kolbenhalses zu benetzen, und setzt die Veraschung (wenn nötig unter weiterem vorsichtigen Zusatz einiger Tropfen Wasserstoffsuperoxydlösung) so lange fort, bis die Lösung völlig klar und farblos geworden ist. Es ist dabei sehr darauf zu achten, daß kein wesentlicher Säureverlust durch Entweichen von Schwefelsäurenebeln eintritt. Um die letzten Reste von Wasserstoffsuperoxyd zu zerstören, erhitzt man schließlich noch 2 Minuten. Nach dem Abkühlen setzt man sogleich 14,1 ccm Ammoniummolybdatlösung zu, verschließt den Kolben mit einem Gummistopfen und schüttelt den Inhalt gut durch. Stärkere Gelbfärbung deutet auf einen störenden Überschuß an Wasserstoffsuperoxyd, eine geringe Gelbfärbung beeinträchtigt dagegen das Ergebnis nicht. Man fügt hierauf 0,6 ccm Aminonaphtholsulfosäurereagenz hinzu, mischt die Lösung sorgfältig und läßt sie eine halbe Stunde im

Dunkeln bei Zimmertemperatur (nicht unter 18° C) zur Entwicklung der Farbe stehen. Zur Herstellung einer Vergleichslösung werden 0,1 ccm Wasser in der gleichen Weise wie die Serumprobe behandelt. Beide Lösungen werden gegeneinander in geeigneter Schichtdicke, vorwiegend 2 - 3 cm, mit dem Filter S 72 gemessen.

Berechnung: $c = 118,2 \cdot k$ mg Phosphor in 100 ccm Serum.

2. Die Präzipitationsreaktion

Der "Beta-L-Test" beruht auf der Präzipitationsreaktion, die von Heidelberger und Kendall als analytisch-quantitative Methode ausgearbeitet wurde. Bestehen über den Mechanismus der Präzipitationsreaktion zahlreiche Theorien, so herrscht doch darüber Einigkeit, daß das spezifische Präzipitat als ein Ergebnis der Verbindung zwischen Antigen- und Antikörpermolekülen gebildet wird. Dieser Antigen-Antikörperkomplex ist bei bestimmten gegenseitigen Mengenverhältnissen unlöslich. Im Prinzip können die Experimente von Heidelberger und Kendall wie folgt erläutert werden: steigende Mengen von Antigen werden einer Reihe von Reagenzgläsern zugesetzt, die ein konstantes Volumen Antiserum enthalten. Der Inhalt wird gemischt und nach Aufbewahren im Kühlschrank während einer bestimmten Zeit in einer gekühlten Zentrifuge zentrifugiert. Die gewaschenen Präzipitate werden mit der Mikrokjeldahlmethode auf Stickstoff analysiert. Proben von jedem Überstand werden durch Zugabe von Antiserum und Antigen getestet, um festzustellen, ob ein Überschuß an Antigen oder Antikörper vorliegt. Die Menge des Präzipitat-Stickstoffs steigt bei steigenden Mengen von Antigen-Stickstoff an, um bei einer bestimmten Menge von Antigen-Stickstoff ein Maximum zu erreichen. Zugabe von mehr als dieser optimalen Menge Antigen gibt zunehmend weniger Präzipitat-Stickstoff, was auf eine Bildung löslicher Komponenten zurückzuführen ist. Die Inspektion der verschiedenen Überstände zeigt die Existenz von drei Zonen:

- a) eine Zone des Antikörperüberschusses
- b) eine enge Äquivalenzzone, wo weder Antigen noch Antikörper im Überstand gefunden werden und schließlich
- c) eine Zone des Antigenüberschusses, siehe Abb. 3 Kurve A.

Am Beginn der Antigenüberschußregion wird alles vom Antikörper und alles bis auf einen sehr kleinen Teil des Antigens präzipitiert. Wenn aber Antigen in beträcht-

lichem Überschuß vorhanden ist, werden lösliche Komponenten gebildet, die zusammen mit dem unverbundenen Antigen im Überstand verbleiben, so daß die Präzipitation geringer als maximal ist. Diese Hemmung der Präzipitation kann vollständig werden bei einem großen Überschuß an Antigen.

Eine andere Form der Präzipitationsreaktion, die von Ramon am Beispiel des Diphtherietoxin-Antitoxin-Systems gefunden wurde, wobei das Antitoxin vom Pferd stammte, zeigt eine Fällung nur über eine relativ schmale Strecke der Antigenkonzentration. Lösliche Komplexe werden sowohl in der Antikörperüberschuß- wie in der Antigenüberschußregion gebildet, siehe Abb. 3 Kurve B. Ursprünglich glaubte man, daß diese Reaktionsform ausschließlich mit Pferdeantikörpern verknüpft sei, bis man sie auch bei einem menschlichen Serum fand, das von einem Kranken mit Struma lymphomatosa stammte. Es hat sich bei Antiseren dieses Typs als schwierig erwiesen, gesetzmäßige Beziehungen wie bei der zuerst beschriebenen Form der Präzipitationsreaktion zu finden. Außerdem weiß man, daß jedes einzelne Pferd Gemische von Antikörpern der beiden geschilderten Präzipitationsformen bilden kann. Dadurch wird jedes Antiserum dieses Typs zu einem Problem für sich und macht es unmöglich, eine allgemeine Behandlung dieses Systems zu erarbeiten.

Wir testeten das Anti-Human-Beta-Lipoproteid-Serum auf seine Zugehörigkeit zu einer dieser beiden immunologischen Reaktionsformen, indem wir es mit Normalserum bzw. Patientenserum in verschiedenen Verhältnissen mischten. Unter Verwendung der im "Beta-L-Test" gebräuchlichen Tropfpipette wurden auf die erste Testkarte 5, auf die zweite 4, auf die dritte 3, auf die vierte 2, und auf die fünfte bis neunte Testkarte je ein Tropfen Antiserum gebracht. Anschließend wurden die Testkarten Nr. 1 bis 5 mit je 1 Tropfen Normalserum bzw. Patientenserum, die sechste Testkarte mit 2, die siebente mit 3, die achte mit 4 und die neunte Testkarte mit 5 Tropfen Serum beschickt. Nach Mischung von Antigen und Antikörper wurden die Immunokrit-Röhrchen bis zur Marke gefüllt und die versiegelten Kapillaren 5 Minuten lang bei einer Umdrehungszahl von 13000/min. zentrifugiert. Das Foto 1 zeigt die 9 Immunokrit-Röhrchen mit ihren Präzipitatsäulen. Über einem Maßstab, wie er auf dem Foto zu sehen ist (ein Teilstrich entspricht 1 mm), wurden die Längen der Präzipitatsäulen mit dem Ablesegerät auf 0,1 mm Genauigkeit abgelesen und in Form einer Kurve dargestellt, s. Abb. 4. Die Werte stammen

von einem Normalserum. Auf die beschriebene Weise gewonnene Präzipitationskurven von 5 Normalseren bzw. von drei hyperlipämischen Seren zeigen die Abb. 5 und 6. Der Verlauf der Präzipitationskurven beweist, daß das im "Beta-L-Test" verwendete Antiserum auch im Antikörperüberschußbereich lösliche Antigen-Antikörperkomplexe bildet. Diese Beobachtung entspricht einer Angabe des Herstellers, daß die kommerzielle Antiserumproduktion in Pferden vorgenommen wurde. Es läßt sich bei der Betrachtung der Präzipitationskurven außerdem erkennen, daß bei dem im Test vorgeschriebenen Verhältnis von Antiserum zu Serum wie 2 : 1 die tatsächlichen Unterschiede in der Menge des Immunpräzipitats nur teilweise oder gar nicht zum Ausdruck kommen. Die Präzipitationskurven können sich nämlich, wie die Abbildungen zeigen, in diesem Bereich noch überkreuzen, bevor sie ihre Äquivalenzzonen erreichen. Erst dann gruppieren sich die Präzipitationskurven in der ihrem tatsächlichen Beta-Lipoproteidgehalt entsprechenden Reihenfolge. Die in der Äquivalenzzone ermittelten Immunokritwerte entsprachen bei den 5 Normalseren der Reihenfolge der elektrophoretisch bestimmten Beta-Lipoproteidfraktionen, so daß sich dem höchsten Immunokritwert auch der höchste elektrophoretisch bestimmte Beta-Lipoproteidwert zuordnete usw.

Die Präzipitationskurven der hyperlipämischen Seren mit ihrem höheren Beta-Lipoproteidgehalt erreichen bereits bei einem Verhältnis von Antiserum zu Serum wie 1 : 2 ihre Äquivalenzzonen. An dem Verlauf dieser Kurven zeigt sich besonders deutlich, daß bei einem Verhältnis von Antiserum zu Serum wie 2 : 1 keine quantitative Aussage erwartet werden kann.

3. Spezifität des im "Beta-L-Test" verwendeten Anti-Human-Beta-Lipoproteid-Serums

a) Untersucht mit Hilfe der Papierelektrophorese. Durch Venenpunktion entnahmen wir einer gesunden Versuchsperson eine Probe Nüchternblut. In dem daraus gewonnenen Serum bestimmten wir, wie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben, die Äquivalenzzone für die Fällung mit Anti-Human-Beta-Lipoproteid-Serum. Im Äquivalenzbereich (bei einem Verhältnis von 1 Tropfen Antiserum zu 4 Tropfen Serum) nahmen wir die Fällung vor. Nach Vermischen des Serums mit dem Antiserum füllten wir 2 Immunokrit-Kapillaren und zentrifugierten. Vom Überstand in den zentri-

fugierten Kapillaren brachten wir - entsprechend der "Verdünnung" durch das Antiserum⁺ - mit einer Mikropipette 0,03 ml auf einen mit Pufferlösung getränkten Filterpapierstreifen. Von dem Vollserum trugen wir 0,024 ml auf. Beide Streifen wurden so über eine Elektrophoresebrücke gelegt, daß ihre Auftragstellen sich auf gleicher Höhe befanden. Nach vierzehnstündiger Trennzeit erfolgte die Färbung mit Ceresschwarz. Dabei zeigte sich ein normales Lipoelektrophoresemuster des Vollserums: eine schnell wandernde Lipoproteidfraktion (Alpha-Lipoproteide) und ein langsamer wanderndes schmales Band mit einer bis zur Auftragstelle reichenden schwächer gefärbten "Schleppe" (Beta-Lipoproteidfraktion). Die Lipoelektrophorese des Überstandes ließ lediglich eine schnell wandernde Lipoproteidfraktion erkennen, siehe Foto 2. Einen zweiten Versuch zur Spezifität des im "Beta-L-Test" verwendeten Anti-Human-Beta-Lipoproteid-Serums nahmen wir daraufhin an einer durch Venenpunktion von der selben Versuchsperson gewonnenen Serumprobe vor, die drei Stunden nach oraler Fettbelastung mit 200 g Sahne eine deutliche Trübung aufwies. Die Lipoelektrophorese dieser Probe zeigte, verglichen mit der Lipoelektrophorese des Nüchternserums eine entsprechend intensivere Färbung der "Schleppe". Nach Fällung mit Anti-Human-Beta-Lipoproteidserum in der Äquivalenzzone (1 Tropfen Antiserum zu 4 Tropfen Serum) und Zentrifugieren der gefüllten Kapillaren wurde der klare Überstand elektrophoretisch getrennt und der getrocknete Streifen mit Ceresschwarz gefärbt. Außer der Alpha-Lipoproteidfraktion war eine schmale, nicht gewanderte, fettaffine Zone an der Auftragstelle zu erkennen, siehe Foto 2. Da das Serum von der selben Person wie im ersten Fällungsversuch stammte, so muß diese Fraktion durch die Fettaufnahme verursacht worden sein.

In einem dritten Versuch stellten wir für das milchige Serum eines Kranken mit essentieller Hyperlipämie eine Präzipitationskurve auf. Im Äquivalenzbereich, der

+ Das Antiserum beeinflusst das Lipoelektrophoresemuster bei den in Frage kommenden Konzentrationen nicht. Erst wenn etwa die dreifache Menge wie normalerweise aufgetragen wird, erkennt man ein für das Pferdeserum charakteristisches Muster, bei dem die Alpha-Lipoproteidfraktion stärker ausgebildet ist als die Beta-Lipoproteidfraktion.

für dieses Serum bei einem Verhältnis von Antiserum zu Serum wie 1 : 2 gefunden wurde, nahmen wir die Fällung vor. Das elektrophoretisch getrennte Vollserum ergab ein anormales Muster der Lipoidverteilung; die Alpha-Lipoproteidfraktion stellte einen Anteil von nur 4,9 %. Das normalerweise scharf abgegrenzte Beta-Lipoproteidband und die sich daran anschließende, schwächer gefärbte, bis zur Auftragstelle reichende Beta-Lipoproteidfraktion imponierten hier als ein fast gleich stark gefärbtes breites Band. Dabei entfielen auf den anodenwärts gelegenen Anteil dieses Bandes 39,8 % der Farbintensität, auf den bis zum Startpunkt reichenden Anteil 55,3 %. Die Lipoelektrophorese des Überstandes zeigte lediglich eine Alpha-Lipoproteidfraktion, siehe Foto 2. Die Papierelektrophorese erweist demnach die Spezifität des im "Beta-L-Test" verwendeten Anti-Human-Beta-Lipoproteid-Serums. Die im Anschluß an eine fett- und lipoidreiche Mahlzeit im Serum auftretenden Chylomikronen wurden nicht präzipitiert.

Das stark lipämisch-getrübte Serum eines Patienten mit essentieller Hyperlipämie konnte durch Fällung mit "Beta-L-Antiserum" geklärt werden. Da der Überstand der Kapillare nach der elektrophoretischen Trennung nur ein Alpha-Lipoproteidband zeigte, muß es sich in diesem Fall um eine Vermehrung immunologisch charakterisierter Beta-Lipoproteide im Serum, und nicht um eine Vermehrung von Chylomikronen, gehandelt haben.

b) Untersucht mit Hilfe der Immunoelktrophorese

Wir wendeten die Methode nach Grabar an: Eine Schicht 2 %igen Agars, der auf ein pH von 8,4 eingestellt ist, wurde auf 4 Objektträger gegossen. Aus der Schicht wurden nach Erkalten des Agars in der Längsrichtung des Objektträgers ein Schlitz und zu dessen beiden Seiten je ein Loch ausgestanzt. Mit einer Wasserstrahlpumpe wurden die Löcher ausgehoben. In je ein Loch der Plättchen Nr. 1 und 2 wurde ein Normalserum pipettiert. Das zweite Loch auf beiden Plättchen wurde mit einer kleinen Menge des Überstandes einer Immunokritkapillare gefüllt, nachdem diese mit dem Normalserum und dem Antiserum im äquivalenten Verhältnis (4 : 1) gefüllt und zentrifugiert worden war. In je ein Loch der Plättchen Nr. 3 und 4 wurde eine kleine Menge eines hyperlipämischen Serums gebracht. Das freigebliebene Loch auf beiden Plättchen wurde anschließend mit dem Überstand einer Immunokrit-

kapillare beschickt, die vorher mit dem hyperlipämischen Serum und dem Antiserum im äquivalenten Verhältnis (2 : 1) gefüllt und zentrifugiert worden war. Die 4 Plättchen wurden nun in eine Elektrophoresekammer gelegt. Bei 45 mA und ca. 280 V wurde das Serum 90 Minuten lang getrennt. Nach der Trennung wurde auf allen Plättchen der Schlitz ausgehoben und bei je einem der paarweise zusammengehörigen Plättchen mit Anti-Human-Serum gefüllt. Bei den beiden übrigen Plättchen wurde der Schlitz mit Anti-Human-Beta-Lipoprotein-Serum beschickt. Die Plättchen wurden nun zum Diffundieren für 12 Stunden in eine feuchte Kammer gelegt. Nach dem Diffundieren wurden die Agarplättchen in 0,9 %iger NaCl-Lösung gewaschen, damit die Eiweiße, die nicht diffundiert sind, nicht angefärbt werden können. Danach wurden die Objektträger auf eine Glasplatte gelegt, mit einem nassen Filterpapier bedeckt und getrocknet. Gefärbt wurde mit Azocarmin G 15 Minuten. Entfärbt wurde mit 10 %iger Essigsäure, bis der Agar ganz weiß war.

Die gegen Anti-Human-Serum angesetzten Immunoelktrophoresen der beiden Vollseren und der entsprechenden Überstände (Foto 3a und Foto 4a) lassen sich hinsichtlich des Vorhandenseins oder Fehlens der Beta-Lipoprotein-Präzipitatlinie nicht sicher differenzieren. Dagegen ist eine deutliche Präzipitatlinie sowohl bei dem gegen Anti-Human-Beta-Lipoprotein-Serum angesetzten Normalserum wie bei dem hyperlipämischen Serum erkennbar, während es bei den parallelen Immunoelktrophoresen der Überstände nicht zur Ausbildung einer Präzipitatlinie kam, s. Foto 3b und 4b.

4. Die Reproduzierbarkeit des "Beta-L-Testes"

Die Reproduzierbarkeit des "Beta-L-Testes" wurde untersucht, indem an 6 verschiedenen Seren (3 lipämisch getrübbten und 3 Normalseren) jeweils drei getrennte Bestimmungen durchgeführt wurden, s. Abb. 7.

Die Mittelwerte lagen zwischen 1,8 und 7,3 mm Präzipitatsäule. Die Abweichungen von den Mittelwerten betrugen weniger als 10 %. Wenn das Präzipitat, wie in zwei Fällen, teilweise flotierte, so kam bei den wiederholten Bestimmungen eine mehr oder weniger gleichmäßige Packung des Antigen-Antikörperkomplexes zustande, so daß die Abweichungen vom Mittelwert nahe 10 % lagen.

Unter der Voraussetzung, daß die Kapillaren stets in gleicher Weise versiegelt werden und die Ablesung der Werte unter einem Blickwinkel von möglichst 90° erfolgt, sind die Immunokritwerte gut reproduzierbar.

5. Faktoren, die die Menge des immunologischen Präzipitats beeinflussen

a) Temperatur und Zeit, sowie Einfrieren und Auftauen des Serums

Ein Normalserum und ein Nephroseserum teilten wir in je drei Portionen. Von beiden Seren wurde dann ein Teil bei Zimmertemperatur, ein Teil bei 4° C und ein dritter eingefroren aufbewahrt. Am 1., 3., 7., 14. und 28. bzw. 34. Tag bestimmten wir bei beiden Seren in allen drei Portionen den ICT-Wert, das Gesamt- und das freie Cholesterin, die Gesamtlipoide, den Lipoidphosphor und die elektro-phoretische Verteilung der Lipoide, siehe Tabelle 2 und 3. Dabei beobachteten wir, daß die Höhe des Immunopräzipitats bei beiden Seren nach einmaligem Einfrieren und Auftauen geringgradig abnahm. Wenn die Seren 4 weitere Male eingefroren und wieder aufgetaut wurden, blieb der Immunokritwert hingegen konstant. Die bei 4° C aufbewahrten Serumproben zeigten in beiden Versuchen am 1. Tag keinen verwertbaren Verlust an Präzipitat. Am 3. Tag war der Unterschied dem der eingefrorenen Serumproben gleich. Das bei 4° C aufbewahrte Normalserum zeigte bis zum 28. Tag, an dem die anderen in dieser Probe bestimmten Lipoidwerte schon stark verändert waren und die Lipoelektrophorese sich nicht mehr auswerten ließ, keine weitere Veränderung des Immunokritwertes. In dem bei 4° C aufbewahrten Nephroseserum war der Immunokritwert am 34. Tag deutlich abgefallen, und alle anderen Lipoidwerte waren ebenfalls stark verändert. Die Lipoelektrophorese war nicht mehr auswertbar. Die Präzipitatsäule der bei Raumtemperatur aufbewahrten Portionen war am 3. Tag nicht bzw. nur um 0,1 mm gesunken.

Unsere Vermutung, daß der wahre Verlust an Präzipitat bei einem Testverhältnis von Antiserum zu Serum wie 2 : 1 verschleiert und erst in der Äquivalenzzone in seiner tatsächlichen Größe nachweisbar würde, bestätigte sich nicht. Die Abbildung 8 zeigt die Präzipitationskurven ein und desselben Serums vor und nach einmaligem Einfrieren und Auftauen.

b) Die Wirkung einer Fettbelastung auf die Menge des Immunopräzipitats

Zwei gesunden Versuchspersonen (Medizinstudenten) nahmen wir eine Probe Nüchternblut ab und ließen sie anschließend 200 g Sahne essen. Im Nüchternserum und

in den Proben, die eine Stunde, zwei, drei, sechs und acht Stunden nach der Sahnemahlzeit abgenommen wurden, bestimmten wir den Immunokritwert, das Gesamt- und das freie Cholesterin, die Gesamtlipoide und ihre elektrophoretische Verteilung auf die Lipoproteide. In Fettbelastungsversuch 1 wurde die Trübung der verschiedenen Serumproben bei Filter 570 μ und 1 cm Schicktdicke gegen Aqua dest. im Photometer Eppendorf gemessen, s. Tabelle 4. In Fettbelastungsversuch 2 bestimmten wir außerdem den Lipoidphosphor, s. Tabelle 5.

Im 1. Fettbelastungsversuch beobachteten wir eine deutliche Trübung des Serums 3 Stunden nach Einnahme der Sahnemahlzeit. Das nach 2 Stunden, sowie das nach 6 Stunden entnommene Serum zeigten ebenfalls eine sichtbare Trübung.

Die Gesamtlipoide nahmen bis zur 3. Stunde um 28 % zu, noch stärker war die Zunahme der Beta-Lipoproteidfraktion der Elektrophorese, die 40 % ausmachte. Die Immunokritwerte ließen keine Veränderung gegenüber dem Ausgangswert erkennen, wenn man im Verhältnis Antiserum zu Serum wie 2 : 1 testete. Im Äquivalenzbereich (Antiserum zu Serum wie 1 : 3) fanden wir in der nach 3 Stunden entnommenen Serumprobe eine Zunahme des Immunokritwertes von 40 %. Dabei kam es zu einer Flotation des gesamten Präzipitats, die in den Tabellen durch einen nach oben zeigenden Pfeil gekennzeichnet ist. Das freie und das Gesamtcholesterin zeigten negative Veränderungen unter der Fettbelastung.

In Versuch 2 trat der Höhepunkt der Lipämie nach der 2. Stunde ein und blieb bis nach der 3. Stunde bestehen. Das nach 6 bzw. 8 Stunden entnommene Serum war wieder klar und durchsichtig. Der Gesamtlipoidspiegel stieg in der 1. Stunde leicht an. Nach der 2. und 3. Stunde wurde der höchste Gesamtlipoidwert gemessen. Nach 6 bzw. 8 Stunden war der Gesamtlipoidwert wieder zum Ausgangsniveau abgefallen. Am deutlichsten war die prozentuale Zunahme im Bereich der Beta-Lipoproteidfraktion bei der Elektrophorese. Die Beta-Lipoproteidfraktion nahm in der selben Weise wie die Gesamtlipoide nach einer Stunde bereits zu und erreichte nach der 2. und 3. Stunde ebenfalls ein Maximum, das mit 34 % über dem Nüchternwert lag. Bis zur 8. Stunde sank die Beta-Lipoproteidfraktion wieder auf das Ausgangsniveau ab. Bei dem im "Beta-L-Test" vorgeschriebenen Verhältnis von Antiserum zu Serum wie 2 : 1 ließ sich auch hier keine auffällige Veränderung des Immunokritwertes feststellen. Dagegen wurde im Äquivalenzbereich (bei einem Verhältnis von Antiserum

zu Serum wie 1 : 4) eine positive Veränderung deutlich, die 2 Stunden nach der Fettbelastung mit 51 % gegenüber dem Nüchternwert ihren Höhepunkt erreichte. Diesmal sahen wir in der am stärksten lipämisch getrübbten Serumprobe keine Flotation des Präzipitats. Während der Gesamtcholesterinspiegel nach der Fettmahlzeit nicht anstieg, dagegen von der 3. bis zur 6. Stunde abfiel, beobachteten wir einen Anstieg des freien Cholesterins, dessen höchster Wert mit dem Höhepunkt der Lipämie zusammenfiel. Uncharakteristisch reagierten der Lipoidphosphor bzw. die Phosphatide auf die Fettbelastung.

In Tabelle 6 sind die Änderungen der Lipoid- und Lipoproteidkonzentrationen, die während der beiden Fettbelastungsversuche auf dem Höhepunkt der Lipämie gemessen wurden, zusammengestellt.

c) Der Einfluß der essentiellen Phosphatide auf den
Verlauf einer oralen Fettbelastung

Der selben Versuchsperson wie in Fettbelastungsversuch 1 wurde eine Nüchternblutprobe entnommen. Daran anschließend wurden 2000 mg essentieller Phosphatide (sog. EPL-Substanz, Nattermann) intravenös injiziert. Bei den essentiellen Phosphatiden handelt es sich um Phosphatide mit definierter Fettsäurebesetzung, wobei die Linolsäure etwa 80 % des Fettsäureanteils ausmacht.

Eine Stunde nach der Injektion entnahmen wir eine weitere Probe Nüchternblut und ließen darauf die Versuchsperson 200 g Sahne essen. Von der Einnahme der Sahnemahlzeit gerechnet, wurde nun in Abständen von einer halben, einer, zwei, drei, sechs und acht Stunden Blut entnommen. Alle 8 Serumproben wurden untersucht auf Gesamtlipoiden und ihre elektrophoretische Verteilung, auf immunologisch nachweisbare Beta-Lipoproteide, das Gesamt- und das freie Cholesterin und auf Lipoidphosphor, siehe Tabelle 7.

Ein deutlicher Abfall sowohl der Gesamtlipoiden wie der Beta-Lipoproteidfraktion der Elektrophorese war 1 Stunde nach Injektion von 2000 mg "EPL-Substanz" erkennbar. Das Gesamtcholesterin und der Lipoidphosphor waren ebenfalls abgesunken. Eine halbe Stunde nach Einnahme der Fettmahlzeit war es bei den Gesamtlipoiden und der Beta-Lipoproteidfraktion zu einer weiteren Abnahme gekommen. Zu dem Zeitpunkt, an dem wir ohne Injektion essentieller Phosphatide den Höhepunkt

der Lipämie erwartet hätten, nämlich nach zwei bis drei Stunden, sahen wir keine Trübung des Serums. Die "Schleppe" bzw. die Beta-Lipoproteidfraktion zeigte einen geringen relativen Zuwachs nach 2 Stunden, wobei die Gesamtlipide in dieser Probe gegenüber dem Nüchternwert vermindert waren. Der Immunokritwert war nach 2 Stunden um 12,5 % angestiegen. Bei Beendigung des Versuchs lagen der Gesamtlipidspiegel, die elektrophoretisch bestimmte Beta-Lipoproteidfraktion, die immunologisch bestimmten Beta-Lipoproteide, der Gesamtcholesterin- und der Lipoidphosphorspiegel unter den Werten des Nüchternserums.

In einem zweiten Versuch ließen wir den Probanden nach einer Nüchternblutentnahme 200 g Sahne essen. Die Injektion von EPL-Substanz verabfolgten wir eine Stunde nach dieser Fettbelastung. Im Nüchternserum und in den Proben, die eine halbe, eine, zwei, drei und sechs Stunden nach der Fettbelastung abgenommen wurden, untersuchten wir wieder die Gesamtlipide und ihre elektrophoretische Verteilung, die immunologisch bestimmbar Beta-Lipoproteide, das Gesamt- und das freie Cholesterin und den Lipoidphosphor, s. Tabelle 8. Der im Äquivalenzbereich gemessene Immunokritwert stieg von 3,8 mm im Nüchternserum auf 6,0 mm Präzipitatsäule in der Probe, die nach 2 Stunden entnommen wurde. Einen Anstieg stellten wir ebenfalls bei den Gesamtlipiden und bei der Beta-Lipoproteidfraktion fest. Auch der Lipoidphosphor nahm gegenüber dem Ausgangswert zu, während das Gesamtcholesterin abnahm und das freie Cholesterin so gut wie keine Reaktion zeigte.

Nach 6 Stunden fanden wir wieder einen normalen Immunokrit- und Gesamtcholesterinwert. Der Gesamtlipidspiegel war bei Beendigung des Versuches noch leicht erhöht, ebenfalls erhöht war der Lipoidphosphor und das freie Cholesterin. Die Lipoelektrophorese zeigte wieder ein normales Muster.

6. Anwendung des "Beta-L-Testes"

a) bei klinisch Gesunden

Um für unsere Untersuchungen einen "Normalwert" zu erhalten, auf den die an Diabetikern und Patienten mit essentieller Hyperlipämie erhobenen Befunde bezogen werden können, untersuchten wir die Seren von 64 klinisch gesunden Personen, s. Tabellen 9 bis 12. Diese Gruppe setzt sich zusammen aus 36 Frauen im Alter zwischen 17 und 82 Jahren, und 28 Männern im Alter zwischen 22 und 71 Jahren. Das

durch Venenpunktion entnommene Blut wurde in 4 Fällen von med. techn. Assistentinnen, in 5 Fällen von Medizinstudenten gespendet. 5 Blutproben stammten von klinisch behandelten Patienten, die aber trotzdem in diese Gruppe aufgenommen wurden, da bei ihren Erkrankungen (essentielle Hypertonie 2x, Ulcus duodeni 2x, Pyelitis) keine Störungen im Stoffwechsel der Lipide zu erwarten waren bzw. gefunden wurden. Alle übrigen Blutproben wurden Patienten entnommen, die in die Ambulanz der I. Med. Universitätsklinik in München kamen. Die vorläufigen Diagnosen lauteten: unklare Drüsenschwellungen, Zustand nach Ulcus duodeni 3x, vegetative Fehlregulationen 4x, Verdacht auf Niere, Tetanie, z.B. Magen 3x, Venenthrombose, Erythema nodosum, Netzhautblutung, HWS-Syndrom 2x, Hypertonie 5x, Myocardschaden, Verdacht auf spezifischen Prozeß, Verdacht auf Bronchial-Ca, Morbus Boeck, Ca ?, Zustand nach Morbus Bang, chronische Diarrhoe, periphere Durchblutungsstörungen, Bronchitis 3x, z.B. Knochensarkom, Durchblutungsstörungen, z.B. Herz, zerebrale Durchblutungsstörungen, Zustand nach Grippe, Endangiitis, dekompensierter Hypertonus, unklare Kachexie, Kehlkopf-Ca, generalisierter Pruritus, Verdacht auf Arteriitis re. Auge.

Die 64 Immunokritwerte dieser Gruppe, die sich zwischen dem unteren Wert 1,2 mm und dem oberen 3,4 mm Präzipitatsäule bewegen, wurden durch einen Mittelwert $\bar{x} = 2,4$ mm repräsentiert; als objektives Maß der Streuung wurde die mittlere quadratische Abweichung nach der Formel

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}} = \pm 0,5 \text{ errechnet.}$$

Heiskell²⁶ untersuchte mit Hilfe der Immunokritmethode 372 Frauen. Er machte dabei die Beobachtung, daß 124 normal menstruierte Frauen einen signifikant niedrigeren Mittelwert, nämlich $1,9 \pm 0,6$ mm, aufwiesen als 248 Frauen, die sich jenseits der Menopause befanden. Für diese Gruppe ergab sich ein Mittelwert von $2,5 \pm 1,0$ mm Präzipitatsäule. Eine signifikante Korrelation zwischen Höhe des Beta-Lipoproteidspiegels und dem Alter fand sich für alle 372 Untersuchungen. Diesen Zusammenhang zwischen den beiden Größen führt der Autor allerdings auf einen relativ scharfen Anstieg des Beta-Lipoproteidspiegels zwischen dem 45. und 55. Lebensjahr zurück, s. Abb. 13 und Abb. 14, in der unsere an klinisch Gesunden ermittel-

ten Immunokritwerte, gegen das Alter und nach Geschlechtern getrennt, aufgetragen sind.

Der Zeitraum zwischen dem 45. und dem 55. Lebensjahr fiel mit dem Einsetzen der Menopause bei den untersuchten Frauen zusammen. Die erwähnten Befunde entsprechen der Beobachtung bei Ultrazentrifugenuntersuchungen, daß die S_f -Klasse 12 bis 20 zwischen dem 45. und dem 55. Lebensjahr einen steileren Anstieg zeigt als die S_f -Klassen 0 bis 12, 20 bis 100 und 100 bis 400.^{32,34} In der Zeit vor der Menopause weisen alle 4 S_f -Klassen einen allmählichen Anstieg auf. Auch der Cholesterinspiegel steigt bei der Frau vom 33. bis zum 57. Lebensjahr kontinuierlich.

Kein Unterschied zeigte sich indessen zwischen 42 Frauen, die vor der Menopause standen, und 45 Frauen, bei denen die Menopause schon eingetreten war. Dabei waren in beiden Gruppen Frauen zwischen 44 und 52 Jahren zusammengefaßt. Der fehlende Unterschied mag auf eine fortbestehende Aktivität des Ovars nach der Menopause oder auf die Wirkung von Östrogen, das nicht aus dem Ovar stammt, zurückzuführen sein. Diese geringeren Hormonmengen könnten ausreichen, den für die spätere Zeit nach der Menopause charakteristischen Anstieg des Beta-Lipoproteidspiegels zu verzögern, ohne aber im Endometrium noch cyclische Umwandlungen bewirken zu können. Die erhobenen Befunde lassen sich in Zusammenhang bringen mit der klinischen Beobachtung, daß Frauen vor der Menopause sehr selten von arteriosklerotischen Erkrankungen betroffen werden, während die Arteriosklerosegefährdung nach der Menopause stark zunimmt. Ebenso wie der Einfluß der Sexualhormone auf den Lipoidspiegel ist auch der Effekt des Thyroxins, Insulins und der Nebennierenrindensteroiden in Tierversuchen und klinischen Studien nachgewiesen worden. Soweit also Umstellungen und Veränderungen des ganzen Endokriniums und nicht nur der Gonadenfunktion sich in der Zeit des Klimakteriums vollziehen, so könnten auch diese bis zu einem gewissen Grade für den Anstieg des Beta-Lipoproteidspiegels verantwortlich sein.

Aus 465 Immunokritwerten von klinisch gesunden Männern im Alter zwischen 18 und 58 Jahren errechnete Searcy einen Mittelwert von $2,8 \pm 0,8$ mm Präzipitatsäule.⁶⁴

Alters- gruppe	Zahl der Seren	Variations- breite	Mittelwert	mittlere quadr. Abweichung
18-19	14	1,0-4,0	2,4	0,7
20-29	146	1,5-5,8	2,7	0,7
30-39	166	1,2-5,8	2,9	0,9
40-49	95	1,5-5,4	3,0	0,7
50-59	44	1,6-4,0	2,9	0,6
zus.	465	1,0-5,8	2,8	0,8

Es läßt sich aus der Tabelle eine Tendenz der Immunokritwerte erkennen, mit dem Alter allmählich anzusteigen. Vergleichen wir den Durchschnittswert dieser Reihe mit dem von Heiskell angegebenen Mittelwert für Frauen im geschlechtsreifen Alter, so haben diese offenbar einen niedrigeren Beta-Lipoproteidspiegel als Männer der entsprechenden Altersgruppen. Der Unterschied in der Höhe der Werte wird um die Zeit des Eintrittes der Menopause geringer oder gleicht sich sogar ganz aus.

Auf Grund der zitierten und unserer eigenen Untersuchungen müssen bei der Beurteilung eines "Beta-L-Wertes" Alter und Geschlecht berücksichtigt werden. Eine scharfe obere Grenze der "Normwerte" anzugeben, ist unseres Erachtens wegen der großen physiologischen Variationsbreite nicht möglich. Trotzdem kann wohl gesagt werden, daß ein Wert über 3,0 mm Präzipitatsäule als "verdächtig" angesehen werden muß. Nach unseren Beobachtungen finden sich dann in einem großen Teil der Fälle auch Erhöhungen der Gesamtlipoide, des Cholesterins oder Verschiebungen in der elektrophoretischen Verteilung der Lipoproteide. Allerdings wurden auch Werte von 3,0 und 2,9 mm Präzipitatsäule zum Teil in Seren mit erhöhten Gesamtlipoidwerten gemessen. Nur in 5 Seren mit erhöhten Gesamtlipoidwerten wurden "Beta-L-Werte" unter 2,9 mm Präzipitatsäule abgelesen.

b) Anwendung des "Beta-L-Testes" bei 128 Diabetikern

Zur Anwendung des "Beta-L-Testes" bei einer Gruppe von Patienten wählten wir, nicht nur wegen seiner Häufigkeit, das Krankheitsbild des Diabetes mellitus. Seitdem die Stoffwechseleinstellung bei dieser Krankheit kaum noch Schwierigkeiten bereitet, stehen die diabetischen Gefäßkomplikationen - was die Lebenserwartung der

Diabetiker betrifft - ganz im Vordergrund. Bei nachgewiesener Angiopathia diabetica, die sich in den verschiedensten Formen manifestieren kann, sind Störungen in der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Lipoide und Lipoproteide besonders häufig. Obwohl die pathogenetische Bedeutung erhöhter Serumlipoproteide und Serumlipoproteide keineswegs als geklärt angesehen werden kann, empfiehlt u. a. Schettler,⁵³ bei Diabetikern auf alle Fälle die Serumlipoproteide zu kontrollieren und bei Verdacht auf Gefäßkomplikationen auch Untersuchungen der Lipoproteide anzuschließen.

Die Gruppe der untersuchten Diabetiker umfaßt 53 Männer (Tabellen 13-15) und 75 Frauen (Tabellen 16-19). Die Herkunft der Seren ist in den genannten Tabellen mit I = I. Med. Universitätsklinik München und II = Stoffwechselabteilungen des Schwabinger Krankenhauses gekennzeichnet. Alle übrigen 120 Seren stammen aus der Diabetikerambulanz der Med. Universitätspoliklinik München. Die untersuchte Patientengruppe ist in ihrem Alters- und Geschlechtsaufbau und nach der Therapieform in Abbildung 15 dargestellt. Wenn man davon absieht, daß die jugendlichen Diabetiker zwischen 20 und 29 Jahren bei den Männern relativ zu schwach und bei den Frauen relativ zu stark vertreten sind, so handelt es sich in Bezug auf Alter und Geschlecht um einen für die Zuckerkrankheit repräsentativen Querschnitt.⁴⁰ Die Altersgruppen zwischen 60 und 69 Jahren überwiegen bei Männern und Frauen. Der Häufigkeit nach folgen die Altersgruppen von 50 bis 59 und die Altersgruppe über 70 Jahre. Stufenförmig fällt das Stäbchendiagramm dann zu den jüngeren Altersgruppen, die sehr viel seltener betroffen sind. In den Tabellen wurde außer dem Alter (= zum Zeitpunkt der Blutentnahme abgeschlossene Lebensjahre) auch die Dauer des Diabetes angegeben. Dabei zählten wir volle Jahre vom Zeitpunkt der ärztlichen Diagnose des Diabetes mellitus bis zum Tag der Blutentnahme. Wenn die Zuckerkrankheit noch kein ganzes Jahr bestand, wurde auf 1/4, 1/2, ein 3/4 oder 1 Jahr aufgerundet bzw. auf ein 3/4, 1/2 und 1/4 Jahr abgerundet. Der Diabetes mellitus einiger Patienten war erst vor einigen Tagen diagnostiziert worden. Bei diesen wurde in der Spalte "Diabetesdauer" 'entdeckt' vermerkt. - Drei weitere Spalten wurden reserviert, um Angaben hinsichtlich der Therapie zu machen. Als orale Antidiabetika wurden sowohl Sulfonylharnstoff- wie Biguanidpräparate verordnet. Sämtliche Blutproben wurden den nüchternen Patienten durch Venen-

punktion entnommen. Die Insulin spritzenden Diabetiker mußten ihre morgendliche Injektion bis nach der Blutentnahme verschieben.

Die Gesamtheit der 128 Beta-Lipoproteidwerte wurde durch einen Mittelwert $\bar{x} = 3,2^{+1,0}$ mm Präzipitatsäule repräsentiert. In Abbildung 16 sind die an Diabetikern ermittelten Werte gegen das Alter der Patienten aufgetragen und den Werten der klinisch Gesunden (ebenfalls gegen das Alter aufgetragen) gegenübergestellt.

Nimmt man 3,0 mm Präzipitatsäule als obere Grenze der "normalen" Immunokritwerte an, so finden sich unter den 128 untersuchten Diabetikerseren 52 mit erhöhtem Beta-Lipoproteidspiegel. Sie verteilen sich, wenn man die prozentuale Zusammensetzung der Untersuchten berücksichtigt, fast gleichmäßig auf die mit Diät allein, auf die mit Diät und oralen Antidiabetica, und auf die mit Diät und Insulin eingestellten Patienten. Den 52 "erhöhten" Immunokritwerten entsprechen 42 Gesamtlipoidwerte über 800 mg %. Zu 10 "erhöhten" Immunokritwerten gehören Gesamtlipoidwerte unter 800 mg %. Von diesen 10 Seren fand sich aber bei der Hälfte eine deutliche Verschiebung des Alpha-: Beta-Verhältnisses bei der Lipoelektrophorese. Je 2 Seren hatten einen Cholesterinspiegel über 230 mg % bzw. Lipidphosphorwerte über 10,00 mg %. In einem Serum waren alle Lipoidfraktionen unauffällig, während ein "Beta-L-Wert" von 3,8 mm Präzipitatsäule gemessen wurde.

Gliedert man die 128 Diabetiker der Therapieform nach in nur mit Diät, mit Diät und oralen Antidiabetica, und Diät und Insulin behandelte Patienten, so erhält man Mittelwerte von $3,0^{+0,7}$ mm, $3,1^{+1,0}$ mm und $3,2^{+1,1}$ mm Präzipitatsäule (bei der Berechnung der Mittelwerte wurden alle in der Rubrik "Diabetesdauer" als 'entdeckt' aufgeführten Patienten unberücksichtigt gelassen). Ein verwertbarer Unterschied läßt sich also nur zwischen dem arithmetischen Mittel der mit Diät allein eingestellten und den mit Diät und Insulin therapierten Patienten feststellen.

Bei 12 Diabetikerinnen und 10 Diabetikern (in den Tabellen mit N gekennzeichnet) lag eine Nephropathie vor, die sich durch Eiweißausscheidung im Harn bemerkbar machte. (Die Harnuntersuchungen wurden am Tag der Blutentnahme routinemäßig vom Zentrallabor der Med. Universitätspoliklinik in München durchgeführt. Die Angaben über Eiweißausscheidung im Urin haben wir nur dann verwertet, wenn Eiweiß quantitativ bestimmt worden war.) Die Werte lagen zwischen 10 mg % und

1448 mg %. Bei den gleichzeitig ausgeführten Sedimentuntersuchungen fanden sich unregelmäßig außerdem Erythrozyten, Leukozyten, runde Epithelien und hyaline Zylinder. Bei 8 dieser Diabetiker mit Nephropathie war der Krankengeschichte das Vorliegen einer Retinopathie zu entnehmen. Bei den 22 Diabetikern mit nephrotischem Einschlag fanden wir einen hohen Immunokrit-Mittelwert von $3,7 \pm 1,0$ mm Präzipitatsäule.

Name	Vorname	Nierenbefund	Augenhintergrund- befund	Immunokrit
Bar.	Ant.	Pyonephrose Eiw.: 38,8 mg%	-	5,0
Bin.	The.	Eiw.: 50,0 mg%	diab. Retino- pathie	4,0
But.	Hug.	Eiw.: 113,0 mg%	diab. Retino- pathie	3,1
Fro.	Ada.	Kimmelstiel-Wilson		4,4
Gol.	Lud.	Eiw.: 319,6 mg%	-	3,0
Hec.	Emi.	Eiw.: 75,0 mg%	diab. Retino- pathie	3,0
Hen.	Kar.	Eiw.: 342,0 mg%	-	3,9
Kin.	Min.	Eiw.: 1448,0 mg%	diab. Retino- pathie	3,5
Kol.	Hil.	Eiw.: 26,0 mg%	-	2,8
Mey.	Ann.	Nephropathie	diab. Retino- pathie	5,2
Mug.	Fra.	Eiw.: 28,6 mg%	-	4,2
Müh.	Kar.	Eiw.: 521,0 mg%	-	4,8
Mus.	Her.	Eiw.: 349,2 mg%	-	2,0
Nig.	Ann.	Eiw.: 60,4 mg%	-	3,0
Pap.	Ros.	Eiw.: 56,7 mg%	-	2,9
Pis.	Jul.	Eiw.: 315,0 mg%	diab. Retino- pathie	6,5
Rei.	Mar.	Eiw.: 24,5 mg%	-	4,7
Sch.	Ada.	Eiw.: 138,0 mg%	-	4,0
Sch.	Kät.	Eiw.: 388,0 mg%	-	3,6
Str.	Seb.	Eiw.: 10,0 mg%	-	3,4
Sol.	Mar.	Nephropathie	diab. Retino- pathie	3,8
Tör.	Ibr.	Eiw.: 692,0 mg%	-	3,0

In Abb. 17 haben wir die Immunokritwerte gegen die Diabetesdauer aufgetragen. Die Verteilung der Werte läßt keinen Zusammenhang zwischen beiden Größen erkennen. Der nach der Formel

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n} \frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n}}}$$

errechnete Korrelationskoeffizient zwischen "Beta-L-Werten" und Diabetesdauer liegt dementsprechend unter 0,25.

Bei einer Reihe von Diabetikern fand sich im Serum eine milchige bis rahmige Trübung, die regelmäßig mit einer sehr deutlichen Verschiebung der lipoelektrophoretischen Fraktionen einherging. Das immunologische Präzipitat dieser Seren florierte bei Zentrifugierung der Kapillaren entweder insgesamt oder nur zu einem Teil. (Die Höhe der Präzipitatsäule wurde genauso abgelesen, wie wenn das Präzipitat sedimentiert wäre.) Der Flotation dürfte eine Zunahme der Beta-Lipoproteide sehr niedriger Dichte entsprechen, die besonders reich an Neutralfetten sind.

c) bei 7 Patienten mit essentieller Hyperlipämie

Bei 7 Patienten mit essentieller Hyperlipämie, deren Serum eine milchige bis rahmige Beschaffenheit aufwies, wurden Immunokritwerte zwischen 4,7 und 6,9 mm Präzipitatsäule gemessen. Dabei war in allen 7 Kapillaren das Präzipitat teilweise oder insgesamt floriert.

Die Lipoelektrophoresen dieser Patienten zeigten das für dieses Krankheitsbild charakteristische Muster. Die normalerweise schwach gefärbte "Schleppe" innerhalb der Beta-Lipoproteidfraction wies eine sehr intensive Färbung auf. Das Verhältnis Alpha- zu Beta-Lipoproteidfraction war bis auf einen Fall deutlich zu Gunsten der Beta-Lipoproteide verschoben. Die Lipoproteidelektrophorese eines hyperlipämischen Serums ließ sich wegen der mangelnden Trennung der Fraktionen nicht auswerten, s. Tabelle 20.

7. Korrelation des "Beta-L-Testes"

a) mit anderen Methoden zur Bestimmung der Beta-Lipoproteide

Es wurden die Immunokritwerte von 128 Diabetikern mit den parallel bestimmten Beta-Fractionen der Lipoelektrophorese in Beziehung gebracht, s. Abb. 18.

(Der prozentuale Anteil der Lipoproteide, der bei der Lipoelektrophorese als Beta-Fraktion wandert, wurde multipliziert mit dem nach Swahn ermittelten Gesamtlipoidwert.) Nach der Formel

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x}) (y_i - \bar{y})}{n} = + 0,816$$
$$\sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n} \frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n}}$$

berechneten wir den Zusammenhang zwischen den beiden Reihen von Werten in Form des Korrelationskoeffizienten. Dieser Wert $r = +0,816$ steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Heiskell, der für die beiden Methoden an 55 Seren einen Korrelationskoeffizienten von $+0,89$ ermittelte.²⁵ (Das von ihm verwendete Antiserum war durch Immunisierung von Kaninchen hergestellt worden).

Heiskell untersuchte an 53 Seren auch die Beziehung zwischen der Menge des Immunopräzipitats und den entsprechenden Beta-Lipoproteidwerten, die mit Hilfe der Polyanion-Fällung (modifiziert nach Burstein⁶) bestimmt worden waren. Die Korrelation betrug $+0,74$.²⁵

Ultrazentrifugenuntersuchungen an 123 Seren ergaben einen etwas weniger strengen Zusammenhang der "low-density lipoprotein"-Werte mit den parallel bestimmten Immunokritwerten: $r = +0,66$.⁶⁴

b) mit Methoden zur Bestimmung der Gesamtlipoide, des Gesamt- und des freien Cholesterins und des Lipoidphosphors

Wie im allgemeinen Teil erwähnt, kommen Fette und Lipide nicht frei als solche im Blut vor, sondern in Form von Lipoproteiden. Dabei enthalten die Beta-Lipoproteide etwa $3/4$ der gesamten Fett- und Lipoidmenge des Serums. Dement-

sprechend fand sich auch zwischen Gesamtlipoid- ($n=128$) und Immunokritwerten eine recht enge Korrelation von $r = +0,794$, s. Abb. 19.

Da, wie wir wissen, etwa 70 % des Cholesterins in den Beta-Lipoproteiden enthalten sind, war auch die Frage der gegenseitigen Abhängigkeit dieser beiden Größen zu prüfen. Wir fanden, wiederum an 128 Seren, einen guten Zusammenhang: $r = +0,692$, s. Abb. 20. Demgegenüber berichtete Heiskell²⁵ von 54 Untersuchungen (Cholesterinbestimmungen nach Pearson, Stern und McGavack⁴⁶), bei denen er einen Korrelationskoeffizienten von nur $+0,27$ errechnete. (Das verwendete Antiserum stammte von Kaninchen.) Zwischen unseren freien Cholesterinwerten und den Mengen des Immunopräzipitats ergab sich eine Korrelation von $r = +0,780$, s. Abb. 21.

In Übereinstimmung mit der den Phosphatiden zugeschriebenen integrierenden Rolle als "Lösungsvermittler" für den Zusammenhalt von Lipoiden und Proteinen fanden wir auch zwischen den Lipoidphosphorbestimmungen ($n = 128$) und den mit Hilfe des Immunokritverfahrens ermittelten Werten einen recht engen Zusammenhang von $r = +0,737$, s. Abb. 21.

Die häufig gemachte Beobachtung, daß sich ganze Substanzgruppen bei den Fetten und Lipoiden des Serums gleichsinnig verhalten, kam in unseren Untersuchungen in einer guten Korrelation der Immunokritwerte mit den Ergebnissen der anderen Lipoidbestimmungen zum Ausdruck. Trotz der erhobenen Einwände wegen des besonderen Antiserumtyps, der nur in der Äquivalenzzone eine quantitative Fällung zuläßt, ist es möglich, mit Hilfe des "Beta-L-Testes" Veränderungen im Stoffwechsel der Lipide aufzudecken. Diesen Veränderungen könnte dann im einzelnen nachgegangen werden. Bei der Einfachheit der Methode ließe sich eine Kontrolle größerer Patientengruppen, z. B. von Diabetikern, durchführen. Es kann gesagt werden, daß Veränderungen in anderen Lipoidklassen unwahrscheinlich sind, wenn die Immunokritwerte unterhalb der Grenze von 2,8 bis 3,0 mm Präzipitatsäule liegen.

E. Zusammenfassung der Ergebnisse

Der "Beta-L-Test" zur immunologischen Bestimmung der Beta-Lipoproteide wurde hinsichtlich seiner Grundlagen, seiner Spezifität, seiner Reproduzierbarkeit und der Beeinflußbarkeit durch äußere Faktoren geprüft. Über Ergebnisse der Anwendung des "Beta-L-Testes" bei klinisch Gesunden, Diabetikern und Patienten mit essentieller Hyperlipämie wurde berichtet.

Es zeigte sich, daß die Reaktion zwischen dem im "Beta-L-Test" verwendeten Anti-Human-Beta-Lipoprotein-Serum und den im menschlichen Serum enthaltenen Beta-Lipoproteiden in Form der von Ramon beschriebenen Diphtherietoxin-Antitoxinreaktion abläuft. Quantitative Ergebnisse sind daher nur in der Äquivalenzzone zu erwarten.

Die Spezifität des Anti-Human-Beta-Lipoprotein-Serums wurde papier- und immunoelektrophoretisch erwiesen. Die Reproduzierbarkeit der Immunokritwerte ist gut; bei wiederholten Bestimmungen waren die Abweichungen vom Mittelwert nicht größer als 10 %.

Die Beeinflußbarkeit der Präzipitatsmenge durch Temperatur und Zeit, und durch Einfrieren und Auftauen des Serums ist innerhalb der interessierenden Grenzen gering. Unter oraler Fettbelastung ergab sich eine eindeutige Vermehrung des Immunopräzipitats (2 Versuche), wenn wir in der Äquivalenzzone testeten. Die bei einem Verhältnis von Antiserum zu Serum wie 2 : 1 gemessenen Werte zeigten keine Veränderung.

Wurden 1 Stunde vor der Fettbelastung 2000 mg essentielle Phosphatide ("EPL"-Substanz, Nattermann) i.v. injiziert, so kam es zu keinem Anstieg der Präzipitatsäule (1 Beobachtung). Wenn wir die Injektion 1 Stunde nach der Fettaufnahme vornahmen, so stieg der Immunokritwert dennoch an.

An einer Gruppe von klinisch Gesunden ($n = 64$) wurde ein Immunokritmittelwert von $2,4 \pm 1,0$ mm Präzipitatsäule ermittelt. Bei Frauen zeigte sich ein relativ steiler Anstieg der Werte um die Zeit der Menopause.

Der aus 128 Bestimmungen an Diabetikerseren errechnete Immunokritmittelwert lag bei $3,2 \pm 1,0$ mm Präzipitatsäule. Deutlich höher lagen die Werte derjenigen Diabetiker, bei denen eine Nephropathie (Eiweißausscheidung im Harn) vorlag. Der Mittelwert ($n = 22$) betrug $3,7 \pm 1,0$ mm Präzipitatsäule.

Ein Zusammenhang zwischen Diabetesdauer und Menge des Immunopräzipitats konnte nicht festgestellt werden. Bei 7 Patienten mit essentieller Hyperlipämie fanden wir Immunokritwerte zwischen 4,7 und 6,9 mm Präzipitatsäule. In allen 7 Kapillaren flotierte das Präzipitat entweder insgesamt oder aber zu einem Teil.

Die Korrelation der Immunokritwerte mit den elektrophoretisch bestimmten Beta-Lipoproteidfraktionen war mit $r = +0,816$ am engsten.

Etwas geringer war der Zusammenhang zwischen Gesamtlipoidwerten ($n = 128$) und Immunokritwerten, nämlich $r = +0,794$.

Der Korrelationskoeffizient zwischen Immunokritwerten und freien Cholesterinwerten ($n = 128$) betrug $+0,780$; der zwischen Immunokrit- und Lipoidphosphorwerten ($n = 128$) lag bei $+0,737$.

Der relativ geringste Zusammenhang errechnete sich mit $r = +0,694$ für 128 Gesamtcholesterinwerte und die entsprechenden Mengen des Immunopräzipitats. Die Möglichkeit einer klinischen Anwendung des "Beta-L-Testes" wurde diskutiert.

Tabelle 1

Chemische Zusammensetzung der Lipoproteide
(nach Olson und Vester)⁴³

Fraktionen	Protein %	Lipide %	Triglyceride	Phosphatide	verestertes Cholesterin + Fettsäuren	freies Cholesterin	unveresterte Fettsäuren (NEFA)
Chylomikrone S _f 10 ⁴ -10 ⁵	1	99	88	8	3	1	--
Beta-Lipo- proteide S _f 20-400	7	93	56	20	15	8	1
Beta-Lipo- proteide S _f 12-20	11	89	29	26	34	9	1
Beta-Lipo- proteide S _f 0-12	21	79	13	28	48	10	1
Alpha-Lipo- proteide HD L ₂	33	67	16	43	31	10	--
Alpha-Lipo- proteide HD L ₃	57	43	13	46	29	6	6
Albumin- NEFA	99	1	0	0	0	0	100

Tabelle 2

Alterungs- und Gefrierauftauversuch an einem Normalserum

	Beta-L ⁺	Cholesterin gesamt frei	G-Lipoide	Lipoidelektrophorese		Lipoidphosphor	
				Alpha	Beta		
1. Tag Raumtemperatur 4° C eingefroren	2,9 2,8 2,6	178,5 175,5 175,5	69,5 68,5 73	795 825 835	20,2 % 17,5 % 22,3 %	79,8 % 82,5 % 77,7 %	3,30 3,61 3,78
3. Tag Raumtemperatur 4° C eingefroren	2,8 2,6 2,6	173 181,5 181	67 70 69,5	810 790 805	19,7 % 23,9 % 14,1 %	80,3 % 76,1 % 85,9 %	4,07 4,43 4,20
7. Tag ----- 4° C eingefroren	2,6 2,7	183 179,5	65,5 68	820 835	27,8 % 23,4 %	72,2 % 76,6 %	4,61 4,14
14. Tag ----- 4° C eingefroren	2,6 2,6	187 180	70 69	815 800	17,6 % 22,1 %	82,4 % 77,9 %	4,08 4,37
28. Tag ----- 4° C eingefroren	2,6 2,6	233 173,5	157,5 69	105 820	nicht auswertbar 22,1 %	77,9 %	1,18 4,43

+ Beta-L = Beta-L-Wert = Immunokritwert in mm Präzipitatsäule. Alle anderen Angaben in mg %.

+ Beta-L = Beta-L-Wert = Immunkritwert in mm Präzipitatsäule. Alle anderen Angaben in mg%.

Tabelle 3

Alterungs- und Gefrierauftauversuch an einem Nephroseserum

	Beta-L	Cholesterin gesamt	Cholesterin frei	G-Lipide	Lipidelektrophorese		Lipidphosphor
					Alpha	Beta	
1. Tag Raumtemperatur 4° C eingefroren	4,3 4,3 4,0	307,5 318,5 313,5	118,5 119 121	1390 1350 1380	10,6 % 9,7 % 7,8 %	89,4 % 90,3 % 92,2 %	5,43 5,03 5,61
3. Tag Raumtemperatur 4° C eingefroren	4,3 4,0 4,0	304 314 310,5	112 113,5 117	1340 1305 1280	4,6 % 8,2 % 4,6 %	95,4 % 91,8 % 95,4 %	-- 6,15 6,62
7. Tag ----- 4° C eingefroren	4,0 3,8	320,5 322,5	112 118	1315 1355	6,1 % 7,9 %	93,9 % 92,1 %	6,85 6,97
14. Tag ----- 4° C eingefroren	4,0 4,1	313,5 321	124 121,5	1190 1355	10,9 % 11,4 %	89,1 % 88,6 %	7,32 8,03
34. Tag ----- 4° C eingefroren	3,3 4,0	397,5 325	290,5 112,5	205 1320	nicht auswertbar 6,6 %	93,4 %	3,25 7,50

Tabelle 4

Orale Fettbelastung (200 g Sahne)

Bor. Vol. 23 J.	Beta-L		Cholesterin gesamt	frei	G-Lipoide	Lipoidelektrophorese		Trübungswerte Filter 570 mμ
						Alpha	Beta	
Nüchternblutentnahme, dann Fettmahlzeit	2,5	4,9	178	63	580	17,2 %	82,2 %	0,128
nach 1 Stunde	2,4	5,0	171	57	615	16,0 %	84,0 %	0,244
nach 2 Stunden	2,5	5,7	176,5	58	650	12,7 %	87,3 %	0,354
nach 3 Stunden	2,7	6,9 ↑	174,5	61	745	9,5 %	90,5 %	0,970
nach 6 Stunden	2,6	5,9	170	56	620	14,8 %	85,2 %	0,342
nach 8 Stunden	2,5	4,7	172,5	58	625	12,7 %	87,3 %	0,188

Tabelle 5
Orale Fettbelastung (200 g Sahne)

Lam. Rol. 24 J.	Beta-L		Cholesterin gesamt	frei	G-Lipoide	Lipoidelektrophorese		Lipoidphosphor
						Alpha	Beta	
Nüchternblutentnahme, dann Fettmahlzeit	2,3	4,3	178,5	59	690	29,1 %	70,9 %	4,66
nach 1 Stunde	2,0	4,2	179	57	720	24,9 %	75,1 %	3,25
nach 2 Stunden	2,4	6,5	176	65	835	21,1 %	78,9 %	4,20
nach 3 Stunden	2,2	5,1	153	64	835	21,5 %	78,5 %	3,84
nach 6 Stunden	2,4	4,0	136,5	60	670	23,2 %	76,8 %	3,84
nach 8 Stunden	2,1	3,6	137	56	660	27,1 %	72,9 %	4,66

Tabelle 6

Änderungen der Lipoid- und Lipoproteidkonzentrationen

im Serum zweier gesunder Versuchspersonen nach oraler Fettbelastung

Bor. Vol.	Immunokrit wert		Gesamt- Cholesterin		freies Cholesterin		Gesamt- Lipide		Beta-Lipo- protein- fraktion								
	N	L	V	N	L	V	N	L	N	L	V	N	L	V			
	mm	mm	%	mg%	mg%	%	mg%	mg%	mg%	mg%	%	mg%	mg%	%			
	4,9	6,9	40,8	178	174	-2,2	63	51	-3,2	580	745	28,4	480	674	40,4		

Lam. Rol.	Immunokrit- wert			Gesamt- Cholesterin			freies Cholesterin			Gesamt- Lipide			Beta-Lipo- protein- fraktion			Lipoid- phosphor		
	N	L	V	N	L	V	N	L	V	N	L	V	N	L	V	N	L	V
	mm	mm	%	mg%	mg%	%	mg%	mg%	%	mg%	mg%	%	mg%	mg%	%	mg%	mg%	%
	4,3	6,5	51,2	178	176	-1,1	59	55	10,2	690	835	21,0	489	659	34,7	4,66	4,2	-9,9

N = Nüchternwert L = Lipämie auf dem Höhepunkt V = Veränderung in % gegenüber dem Ausgangswert

Tabelle 7

Orale Fettbelastung mit 200 g Sahne nach i. v. Injektion von 2000 mg "EPL"-Substanz

Bor. Vol. 23 J.	Beta-L		Cholesterin gesamt	Cholesterin frei	G-Lipoide	Lipoidelektrophorese		Lipoidphosphor
						Alpha	Beta	
Nüchternblutentnahme, dann "EPL"-Injektion	2,6	4,8	181,5	60	595	20,2 %	79,8 %	4,02
nach 1 Stunde								
2. Nüchternblutent- nahme, dann Fett- mahlzeit (200 g Sahne)	2,6	4,5	166	57	515	21,5 %	78,5 %	2,72
1/2 Stunde nach Fettmahlzeit	3,0	5,4	171	63	480	21,9 %	78,1 %	3,60
1 Stunde nach Fettmahlzeit	2,9	4,9	171	56	490	21,7 %	78,3 %	3,31
2 Stunden nach Fettmahlzeit	2,9	5,4	155,5	64	545	18,0 %	82,0 %	4,08
3 Stunden nach Fettmahlzeit	2,8	4,8	144	64	510	18,0 %	82,0 %	4,08
6 Stunden nach Fettmahlzeit	2,9	4,8	160	66	510	23,5 %	76,5 %	3,60
8 Stunden nach Fettmahlzeit	2,3	4,0	162,5	66	525	28,4 %	71,6 %	3,78

Tabelle 8

Orale Fettbelastung mit 200 g Sahne und nachfolgende "EPL"-Injektion

Mat. Jut. 26 J.	Beta-L	Cholesterin gesamt frei	G- Lipide	Lipidelektrophorese		Lipidphosphor
				Alpha	Beta	
Nüchternblutentnahme, dann Fettmahlzeit	2, 5	153, 5 58	710	28, 4 %	71, 6 %	4, 96
1/2 Stunde nach Fettmahlzeit	2, 5 4, 9	150 57	735	28, 2 %	71, 8 %	5, 55
1 Stunde nach Fett- mahlzeit, dann "EPL"-Injektion	2, 5 5, 5	153 63	740	34, 2 %	65, 8 %	6, 61
2 Stunden nach Fett- mahlzeit 1 Stunde nach "EPL"- Injektion	2, 7 6, 1 ↑ (4, 0)	149, 5 60	775	15, 9 %	84, 1 %	7, 80
3 Stunden nach Fett- mahlzeit 2 Stunden nach "EPL"- Injektion	2, 3 5, 0	145 59	705	19, 7 %	80, 3 %	7, 80
6 Stunden nach Fett- mahlzeit 5 Stunden nach "EPL"- Injektion	2, 5 3, 5	154 64	735	23, 3 %	76, 7 %	6, 72

Tabelle 9

	Name	Vorname	Alter	Beta-L	G-Lipoide	Lipoidetektrophorese		Cholesterin		Lipoidphosphor
						Alpha	Beta	gesamt	frei	
1	Amm.	Gün.	22	1,5	685	25,6 %	74,4 %	167,5	57,5	5,31
2	v. R.	Pet.	22	2,0	605	25,3 %	74,7 %	181	61,5	5,60
3	Kun.	Rüd.	23	2,4	505	43,8 %	56,2 %	193,5	66,5	4,96
4	Bor.	Vol.	23	2,6	595	20,2 %	79,8 %	179,5	61	4,02
5	Pon.	Mat.	23	2,4	510	24,7 %	75,3 %	190,5	60	3,12
6	di S.	Sal.	24	2,1	525	22,6 %	77,4 %	174	50	2,31
7	Lam.	RoL.	24	2,3	690	29,1 %	70,9 %	177,5	60	4,66
8	Sei.	Rud.	26	2,5	505	27,7 %	72,3 %	187	63,5	5,32
9	Fra.	Alb.	32	2,1	815	12,3 %	87,7 %	179,5	65,5	3,84
10	Sch.	Eug.	33	2,3	430	19,8 %	80,2 %	155,5	47,5	3,01
11	Ebe.	Rup.	36	2,0	520	10,2 %	89,8 %	176	56	6,50
12	Sch.	Max	36	1,7	940	15,3 %	84,7 %	206	81	5,43
13	Kle.	Ger.	47	2,4	705	18,8 %	81,2 %	198	72,5	6,15
14	May.	Fra.	49	2,2	785	28,9 %	71,1 %	191	57	4,13
15	Huf.	Alf.	51	2,0	685	21,3 %	78,7 %	128,5	49,5	4,43
16	Spa.	Emm.	51	2,9	755	25,3 %	74,7 %	162,5	61	5,73
17	Nik.	Han.	53	2,1	505	31,2 %	68,8 %	161	50,5	3,96
18	Ham.	Leo.	57	3,1	630	27,1 %	72,9 %	149,5	54	5,02
19	Lim.	Jos.	58	2,9	1050	20,8 %	79,2 %	167	72,5	6,15
20	Söl.	Mic.	58	2,6	955	20,8 %	79,2 %	113,5	66,5	7,39

Tabelle 10

	Name	Vorname	Alter	Beta-L	G-Lipoide	Lipoidelek- trophorese		Cholesterin		Lipoidphosphor
						Alpha	Beta	gesamt	frei	
21	Sup.	Met.	58	2,9	945	26,3 %	73,7 %	180	64,5	7,09
22	Ott	Kar.	59	2,2	810	23,1 %	76,9 %	104,5	26	7,09
23	Fot.	Geo.	62	2,9	805	16,3 %	83,7 %	204	64,5	4,01
24	Car.	Geo.	62	2,6	830	21,5 %	78,5 %	159	57,5	3,78
25	Kos.	Ado.	63	2,5	390	25,7 %	74,3 %	166	33	6,13
26	Sch.	Jak.	67	2,8	505	19,1 %	80,9 %	184	43,5	5,61
27	Dac.	Alo.	71	2,1	665	27,2 %	72,8 %	192,5	47	5,67
28	Emm.	Hei.	71	2,2	615	18,1 %	81,9 %	123	41	3,37

Tabelle 11

Name	Vorname	Alter	Beta-L	G-Lipoide	Lipoidelek- trophorese		Cholesterin		Lipoidphosphor
					Alpha	Beta	gesamt	frei	
1	Bau.	Agn.	17	430	32,5 %	67,5 %	168	46,5	3,20
2	Bau.	Fra.	17	435	31,4 %	68,6 %	144	45	3,84
3	Wes.	Bär.	22	515	21,4 %	78,6 %	165	48	6,50
4	Mad.	Hel.	22	905	26,2 %	73,8 %	200	68,5	7,68
5	Hin.	Ing.	25	340	24,8 %	75,2 %	127	38	3,84
6	S.-R.	Eli.	26	460	29,2 %	70,8 %	174	52	7,91
7	Mat.	Jut.	26	710	28,4 %	71,6 %	152	57,5	4,96
8	Str.	Jul.	29	405	36,4 %	63,6 %	177,5	60,5	6,15
9	Rie.	Pau.	31	830	17,7 %	82,3 %	220	73,5	8,62
10	Dre.	Fra.	31	530	31,8 %	68,2 %	183	65,5	6,14
11	Erh.	Mat.	36	865	18,2 %	81,8 %	169	70	8,11
12	Aub.	Hed.	37	820	26,3 %	73,7 %	218,5	69	8,74
13	Tit.	Hel.	37	710	37,9 %	62,1 %	203	73,5	8,55
14	Uss.	Fra.	38	380	22,5 %	77,5 %	184,5	45,5	3,95
15	Köp.	Bet.	39	715	18,4 %	81,6 %	216	75,5	6,50
16	Röt.	Mar.	42	565	34,6 %	65,4 %	138,5	46,5	5,79
17	Koh.	Ann.	43	615	29,7 %	70,3 %	139	51,5	4,78
18	Jes.	Ros.	44	630	18,8 %	81,2 %	192	55	5,02
19	Hoc.	Ant.	46	770	10,4 %	89,6 %	160	61,5	5,91
20	Sch.	Ant.	47	550	24,3 %	75,7 %	210	54,5	7,21

Tabelle 12

	Name	Vorname	Alter	Beta-L	G- Lipotide	Lipidelektrophorese AlphaBeta	Cholesterin gesamtfrei	Lipoidphosphor
21	Zan.	Fan.	48	3, 4	910	17, 1 % 82, 9 %	254 92, 5	4, 73
22	Sim.	Clo.	49	2, 7	690	27, 1 % 72, 9 %	185 71	5, 38
23	Ric.	Ame.	50	2, 8	995	14, 5 % 85, 5 %	159 65	6, 14
24	Sei.	Mar.	50	3, 2	875	19, 3 % 80, 7 %	247 71	5, 30
25	Rei.	Ann.	52	3, 3	1200	34, 2 % 65, 8 %	309, 5 115	8, 27
26	Rat.	Wal.	53	3, 2	710	15, 3 % 84, 7 %	224, 5 78, 5	2, 12
27	Lie.	The.	54	3, 0	780	33, 6 % 66, 4 %	141 58, 5	5, 55
28	Fla.	Ann.	57	2, 8	680	23, 6 % 76, 4 %	192, 5 68	4, 67
29	Völ.	Mag.	60	2, 6	595	31, 7 % 68, 3 %	172, 5 59	5, 02
30	Gut.	Olg.	62	3, 3	1015	24, 8 % 75, 2 %	272 86, 5	6, 62
31	Har.	Mar.	68	3, 1	970	14, 7 % 85, 3 %	169, 5 65	7, 04
32	Hub.	Ade.	69	3, 4	1030	25, 0 % 75, 0 %	295 83	7, 68
33	Plö.	Mar.	72	3, 0	705	21, 1 % 78, 9 %	207, 5 76	4, 46
34	Vas.	Pau.	72	2, 9	930	28, 1 % 71, 9 %	236 90, 5	7, 33
35	Dil.	Ant.	76	2, 7	860	18, 6 % 81, 4 %	192 69, 5	6, 56
36	Dol.	Jos.	82	2, 9	780	18, 4 % 81, 6 %	208 69, 5	6, 80

Tabelle 13

Name	Vorname	Alter	Diabetes- dauer	Behandlungsart			Beta-L	G-Lipoidel	Lipidelek- trophorse		Cholesterin gesamt	frei phosphor	
				Diät	Diät u. orales Antidiabe- tikum	Diät u. In- sulin			Alpha	Beta			
1	Mau.	H.-P.II	13	1/4		x	2,1	410	9,0 %	91,0 %	141,5	39	3,82
2	Oec.	Gus.	17	entdeckt	x		2,8	790	8,2 %	91,8 %	173	47,5	3,01
3	Mei.	Pau.	18	5		x	2,1	455	23,7 %	76,3 %	189,5	49	5,02
4	Man.	Ern.	29	entdeckt	x		2,0	680	19,9 %	80,1 %	143	46,5	3,25
5	Ste.	Alf.	33	9		x	2,0	655	25,3 %	74,7 %	176	83	4,05
6	v.A.	Ber. I	36	entdeckt		x	6,6 ↑	3060		100 %	354	263	19,20
7	Tör.	Ibr. N	36	13		x	3,0	805	20,1 %	79,9 %	185,5	85	5,21
8	v.S.	Wil.	42	entdeckt	x		4,2 ↑	1215	15,0 %	85,0 %	232,5	89	7,32
9	Pae.	Wer.	42	21		x	3,4	1065	17,1 %	82,9 %	272,5	100,5	4,73
10	Wit.	Geo.	42	4	x		2,3	430	17,8 %	82,2 %	163,5	61,5	6,61
11	Möb.	Eri.	45	1	x		2,2	470	26,9 %	73,1 %	194,5	60	5,02
12	Höp.	Fri.	49	8		x	2,0	540	25,5 %	74,5 %	196	56	4,67
13	Kür.	Mic.	49	1	x		3,0	980	14,9 %	85,1 %	198	65,5	5,26
14	Bar.	Fra.	49	8		x	3,0	560	19,5 %	80,5 %	210	73,5	5,91
15	Pus.	Gün.	49	1		x	2,0	620	35,1 %	64,9 %	197,5	84	7,03
16	Nic.	Alo.	50	entdeckt	x		3,1	1055	10,3 %	89,7 %	224	68,5	6,26
17	Her.	Fra.	51	3/4		x	3,9	750	8,8 %	91,2 %	213,5	83,5	7,21
18	Nar.	Max	52	3/4	x		2,0	465	31,1 %	68,9 %	222	63	5,37
19	Mai.	Alb.	52	5		x	4,3	1135	22,7 %	77,3 %	303	125	8,57
20	Müh.	Kar. N	54	5		x	4,8 ↑	1235	5,3 %	94,7 %	225	111	8,63

Tabelle 14

Behandlungsart														
Name	Vorname	Alter	Diabetes- dauer	Diät	Diät u. orales Antidiabe- tikum	Diät u. In- sulin	G-Lipoide		Lipoidelek- trophorese		Cholesterin			
							Beta-L		Alpha	Beta	gesamt	frei		
21	Buc.	Joh.	55	3	x			2,6	820	11,3%	88,7%	217	73	4,43
22	Bec.	Hel.	55	4	x			4,0	1420	16,1%	83,9%	206	85,5	8,21
23	Gas.	Wil.	56	6	x			3,5	1250	14,4%	85,6%	246,5	75	3,60
24	Pil.	Max.	56	8	x			2,5	595	22,1%	77,9%	189	60	3,96
25	Rot.	Wil.	57	10	x			3,3	905	15,2%	84,8%	191	119,5	5,25
26	Wei.	Lud.	57	8		x		2,0	440	32,4%	67,6%	136	38	11,28
27	Roß.	Joh.	58	9		x		2,0	365	17,4%	82,6%	162	57,5	4,66
28	Sos.	Geo.	58	entdeckt	x			3,7	1200	16,5%	83,5%	274	84	8,21
29	Dep.	Fer.	59	5	x			3,8	575	22,3%	77,7%	215	91,5	7,15
30	Gir.	Max.	59	5		x		3,0	665	25,9%	74,1%	173	61,5	6,14
31	Ker.	Jos.	60	7		x		2,8	485	24,5%	75,5%	233,5	73	5,61
32	Böh.	Joh.	61	14		x		3,3	1105	14,5%	85,5%	236	66	4,90
33	Neh.	Ger.	61	13	x			2,5	705	28,0%	72,0%	190	69,5	3,84
34	Her.	Ber.	62	3	x			2,4	580	25,0%	75,0%	184,5	75,5	4,07
35	Fro.	Ada. N	64	21		x		4,4 ↑	1625	15,5%	84,5%	401,5	189,5	9,21
36	Kös.	Hel.	64	9		x		3,0	755	11,6%	88,4%	157,5	56	4,19
37	Mus.	Her. N	65	9	x			2,0	855	31,1%	68,9%	154	53	6,85
38	Bar.	Ant. N	65	12	x			5,0 ↑	1535	21,8%	78,2%	296	133,5	12,70
39	Gol.	Lud. N	65	24	x			3,0	1270	17,9%	82,1%	269	113	6,02
40	May.	Mar.	66	22		x		2,5	710	26,5%	73,5%	218,5	71	6,44

Tabelle 15

Name	Vorname	Alter	Diabetes- dauer	Diät	Behandlungsart		Beta-L	G-Lipoide	Lipidelektrophorese		Cholesterin	
					Diät u. orales Antidiabetikum	Diät u. In- sulin			Alpha	Beta	gesamt	frei Lipid- phosphor
41	Str.	Seb. N	7		x		3,4	790	24,1%	75,9%	255	97
42	Wei.	Kar.	1		x		3,8	960	10,4%	89,6%	289	124,5
43	Hafe.	Got.	1	x			2,5	560	28,2%	71,8%	150,5	65,5
44	May.	Fri.	4		x		2,9	505	27,7%	72,3%	189,5	57,5
45	But.	Hug. N	25			x	3,1	810	17,3%	82,7%	225	59,5
46	Nie.	Fri.	68	x			2,0	475	20,3%	79,7%	148	55,5
47	Nie.	And.	1		x		2,0	400	29,3%	70,7%	188,5	56
48	Kam.	Osk.	1	x			3,2	790	25,0%	75,0%	241	90
49	Eis.	Geo.	4	x			4,0	1030	8,0%	92,0%	258	125,5
50	Pis.	Jul. N	35			x	6,5 ↑	1395	4,5%	95,5%	368	211,5
51	Rie.	Max.	11			x	3,0	420	26,5%	73,5%	186	64
52	Apf.	Jos.	4	x			2,7	570	22,1%	77,9%	221	74,5
53	Sch.	Ada. N	5	x			4,0	1325	12,0%	88,0%	271	91,5

Tabelle 16

	Name	Vorname	Alter	Diabetes- dauer	Diät	Behandlungsart		Beta-L	G-Lipoide		Lipoidelek- trophorese		Cholesterin	
						Diät u. orales Antidiabe- tikum	Diät u. In- sulin				Alpha	Beta	gesamtfrei	Lipoid- phosphor
1	Lan.	Ger.	19	11			x	1,7	410		24,5%	75,5%	126,5	33,5
2	Ste.	Chr. II	20	6			x	2,6	675		22,2%	77,8%	201,5	59,5
3	Mül.	Eri.	20	14			x	3,0	1020		23,9%	76,1%	280	85,5
4	Buc.	Ant. II	24				x	3,2	900		20,1%	80,9%	211,5	74,5
5	Hen.	Kar. N	24	12			x	3,9	1050		11,0%	89,0%	287,5	93,0
6	Bra.	Rit.	28	13			x	3,0	710		12,7%	87,3%	190	66,5
7	Esp.	Lot. II	31	entdeckt			x	3,0	795		18,2%	81,8%	208,5	72
8	Ste.	Els.	32	17			x	2,6	800		24,8%	75,2%	252	73
9	Kra.	Jos.	38	12			x	1,9	620		39,8%	60,2%	211	53
10	Bre.	Mar.	43	5	x			2,3	785		26,0%	74,0%	214,5	71
11	Koe.	Urs.	44	11			x	2,9	1505		27,9%	72,1%	242	75
12	Höc.	Joh.	45	3		x		2,5	635		18,9%	81,1%	192	62
13	Mar.	Mar.	45	2			x	5,2↑	1405		19,5%	80,5%	240	60
14	Stüs.	Hil.	46	entdeckt		x		3,3	705		13,5%	86,5%	237,5	88
15	Kel.	Kät.	48	1	x			3,8	610		9,7%	90,3%	225	83
16	Fie.	Cha.	50	27			x	2,5	670		17,1%	82,9%	186	57,5
17	Jun.	Ros.	51	3		x		2,9	1085		20,9%	79,1%	250	85,5
18	Lan.	Mar.	51	3		x		2,4	550		19,5%	80,5%	209,5	72,5
19	Löw.	Eli.	52	28			x	2,8	660		23,4%	76,6%	228	85,5
20	Kra.	Mag.	54	entdeckt	x			2,0	385		19,7%	80,3%	132,5	41

Tabelle 17

Name	Vorname	Alter	Behandlungsart			Diät u. Antidiabetikum	Diät orales Antidiabetes- tikum	Diät u. In- sulin	Beta-II	G-Lipide	Lipidelek- trophorese		Cholesterin	
			Diabetes- dauer	Diät							Alpha	Beta	gesamt	frei Lipid- phosphor
21	Kir.	Emm.	2	x					4,0	1340	13,6%	86,4%	275	116 7,79
22	Krü.	Max.	4		x				2,0	480	30,3%	69,7%	153,5	52 4,72
23	Ruc.	Mar.	5		x				3,0	605	32,2%	67,8%	239	83 6,56
24	Sta.	Alo.	13					x	6,9	3240	10,8%	89,2%	325,5	143,5 11,28
25	Hec.	Emi. N	30					x	3,0	680	35,2%	64,8%	267,5	139,5 8,39
26	Kol.	Hil. N	8		x				2,8	655	14,9%	85,1%	189,5	85,5 7,69
27	Ber.	Ann.	5		x				3,2	1035	18,8%	81,2%	236,5	98 9,69
28	Sch.	Ann.	5		x				2,5	775	28,7%	71,3%	184	65 5,67
29	Wei.	Eli.	2					x	4,0	1630	8,0%	92,0%	204	82 6,53
30	The.	Ire.	6	x					2,9	710	19,0%	81,0%	284	74 7,80
31	Wai.	Hil.	1/2	x					3,5	640	22,9%	77,1%	211	70,5 10,04
32	Rei.	Mar. N	12					x	4,7 ↑	3230	5,8%	94,2%	250	89 10,98
33	Böl.	Ann.	10	x					2,3	525	19,5%	80,5%	205,5	70,5 5,61
34	Rei.	Vik.	13					x	2,0	340	25,3%	74,7%	206,5	58 5,67
35	Rit.	Mar.	8					x	2,9	1080	23,1%	76,9%	269	73 5,91
36	Röd.	Mar.	3		x				3,6	1030	17,3%	82,7%	267,5	94 6,55
37	Pöl.	Hil.	7					x	3,5	570	14,2%	85,8%	232	62,5 5,01
38	Nig.	Ann. N	13		x				3,0	525	22,5%	77,5%	251,5	88,5 8,51
39	Leh.	Wil.	5		x				2,4	580	19,2%	80,8%	220,5	84,5 6,44
40	Sch.	Emi.	5		x				3,0	1010	13,5%	86,5%	263,5	99 6,26

Tabelle 18

Name			Vorname	Alter	Diabetes - dauer	Behandlungsart			Lipoidelek- trophorese			Cholesterin		
						Diät	Diät u. orales Antidia- betikum	Diät u. In- sulin	Beta-L	G-Lipide	Alpha	Beta	gesamt	frei Lipoid- phosphor
41	Hei.	Eli.		63	1	x			2,2	525	26,3%	73,7%	221	66,5
42	Sol.	Mar. I N		63	6			x	3,8	1250	6,6%	93,4%	210	81
43	Mei.	Ann.		64	3		x		4,0	825	8,5%	91,5%	264	65,5
44	Pol.	Sof.		64	10			x	3,6 ↑	1325	14,0%	86,0%	244	77,5
45	Sch.	Ann.		64	1		x		3,0	805	26,6%	73,4%	177,5	66
46	The.	Mar.		64	2		x		2,9	550	24,8%	75,2%	212,5	69
47	Sch.	Kät. N		65	7		x		3,6	1035	16,2%	83,8%	254	110
48	Hol.	Ann.		65	1/2		x		2,3	940	25,8%	74,2%	174,5	52
49	Nen.	Cha.		65	5		x		2,1	555	23,7%	76,3%	185	107
50	Ama.	Kät.		65	1	x			3,5	855	28,0%	72,0%	265	96,5
51	Kin.	Min. N		66	14			x	3,5 ↑	1330	16,9%	83,1%	334,5	112,5
52	Har.	Lin.		66	6		x		2,8	755	25,1%	74,9%	243	78
53	Bin.	The. N		68	2			x	4,0	1055	13,7%	86,3%	256	91
54	Has.	Ann.		68	7			x	3,0	875	30,0%	70,0%	177	55
55	Job.	Eli.		68	2	x			2,6	1020	21,0%	79,0%	211	66
56	Die.	The.		69	9		x		3,1	660	7,3%	92,7%	213,5	83,5
57	Hör.	Fra.		69	6		x		4,0	1220	15,7%	84,3%	256	87
58	Sch.	Mar.		69	12			x	3,3	1065	15,3%	84,7%	239	83,5
59	Hun.	Fra.		69	8		x		2,0	595	29,6%	70,4%	204	69
60	Pap.	Ros. N		69	2		x		2,9	500	24,6%	75,4%	193,5	59

Tabelle 19

Name	Vorname	Alter	Diabetes- dauer	Behandlungsart			Beta-Li	Lipoidelek- trophorese		Cholesterin		Lipoid- phospor		
				Diät orales Antidia- betikum	Diät u. In- sulin	G- Lipoide		Alpha	Beta	gesamt	frei			
61	Gra.	II		x			8,0 ↑	3180	10,5%	89,5%	353,5	204,5	17,73	
62	Hub.	Jus.	7	x			4,5 ↑	1610		11,5%	88,5%	290	97	7,21
63	Rös.	Mar.	1	x			3,2	1180		22,8%	77,2%	244,5	101,5	6,62
64	Kar.	The.	4	x			3,2	1090		11,2%	88,8%	182	60	7,38
65	Mey.	Ann. II N	8			x	5,2	1295		4,1%	95,9%	294,5	125,5	8,86
66	Mug.	Fra. N	8			x	4,2	1070		12,8%	87,2%	222	117	7,62
67	Fär.	Ger.	9			x	3,0	695		22,5%	77,5%	285	85	6,20
68	Hol.	Ros.	9	x			2,9	690		34,6%	65,4%	147,5	50,5	5,61
69	Jac.	Mar.	9	x			3,0	655		23,2%	76,8%	222	83,5	5,38
70	Zei.	Ann.	4	x			2,9	925		12,7%	87,3%	242	70	7,44
71	Lum.	Lui.	10	x			2,5	900		21,0%	79,0%	213,5	55	4,01
72	Ros.	Lin.	6	x			2,8	645		24,9%	75,1%	202	66	5,90
73	Mes.	Fra.	12	x			2,5	605		25,6%	74,4%	217	62	4,84
74	Gru.	Jul.	2	x			2,5	735		15,8%	84,2%	230,5	68,5	5,90
75	Sch.	Fan.	3	x			3,9	630		23,3%	76,7%	245	94	6,73

Patienten mit essentieller Hyperlipämie

	Beta-L	G-Lipoide	Lipoidelektrophorese	Cholesterin		
			Alpha	Beta	gesamt	frei
Wei. Osk.	6,9 ↑	5260	nicht auswertb.		405	300
Bau. Agn.	5,6 ↑ 1,0 ↓	2570	20,6 %	79,4 %	345	153
Kas. Kar.	4,0 ↑ 0,7 ↓	2700	3,3 %	96,7 %	260	135
Mac. Ing.	5,0 ↑ 1,0 ↓	2200	7,4 %	92,6 %	445	162
Lar.	6,9 ↑	1995	4,7 %	95,3 %	467,5	258
Kix.	5,4 ↑	2160	3,3 %	96,7 %	364,5	117,5
Bau. A.	5,0 ↑ 0,4 ↓	1990	4,9 %	95,1 %	221,5	87,5

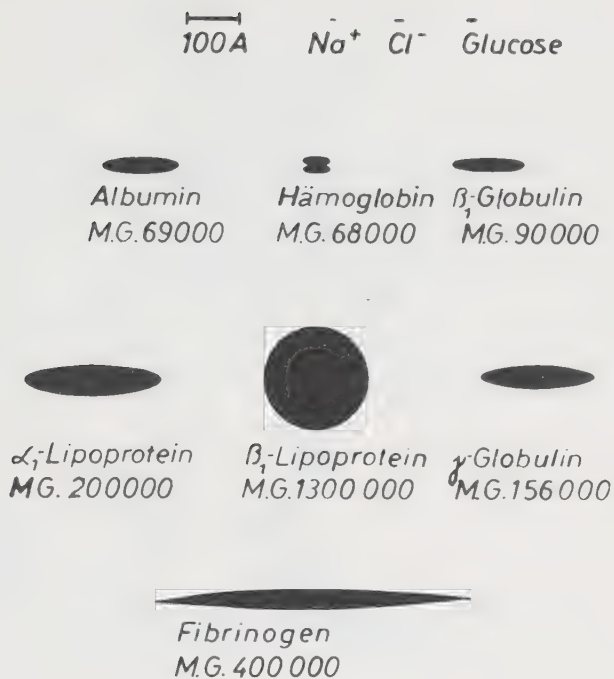


Abb. 1

Dimension eines Beta-Lipoproteids im Vergleich zu anderen Blutproteinen

(gekürzt nach Edsall)

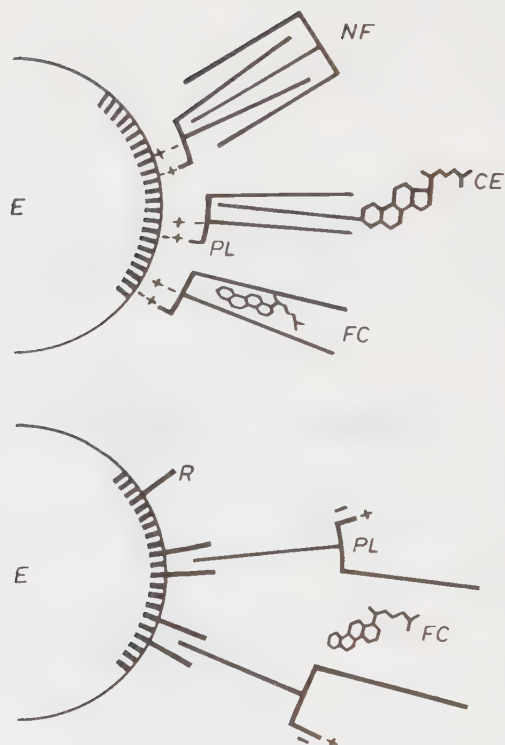


Abb.2

Modell möglicher Anordnungen von Eiweiß und Lipoiden im Lipoprotein.

E=Eiweiß,

NF=Neutralfett,

CE=Cholesterin,

PL= Phosphorlipide,

FC=Freies Cholesterin, *R**aromatische od.

aliphatische Seitenkette
des Eiweißes

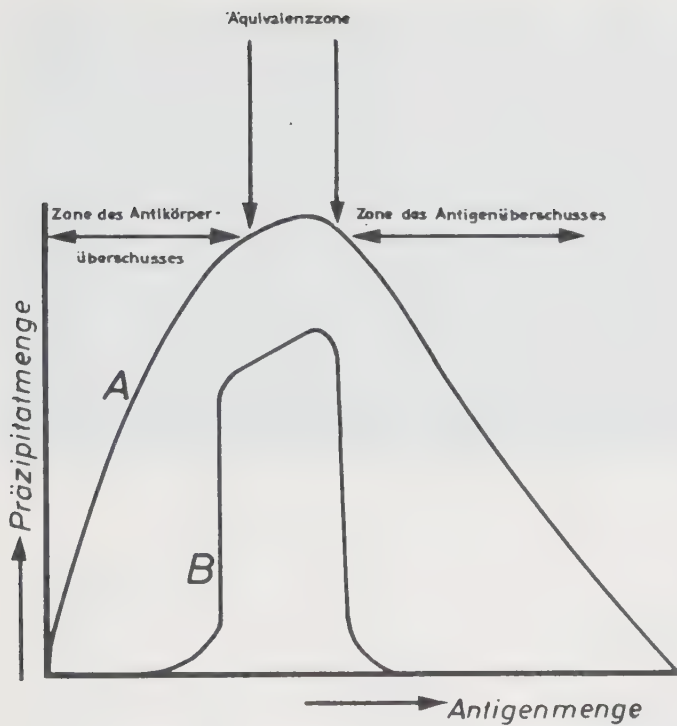


Abb 3

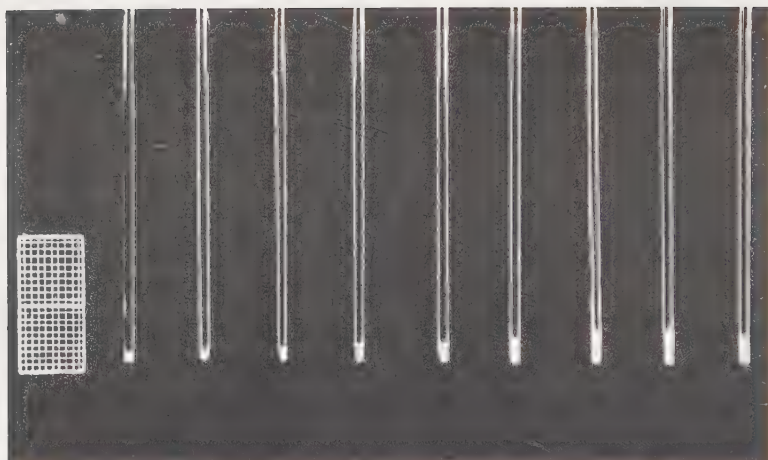


Foto 1

„Immunokritwert“
mm Präzipitssäule

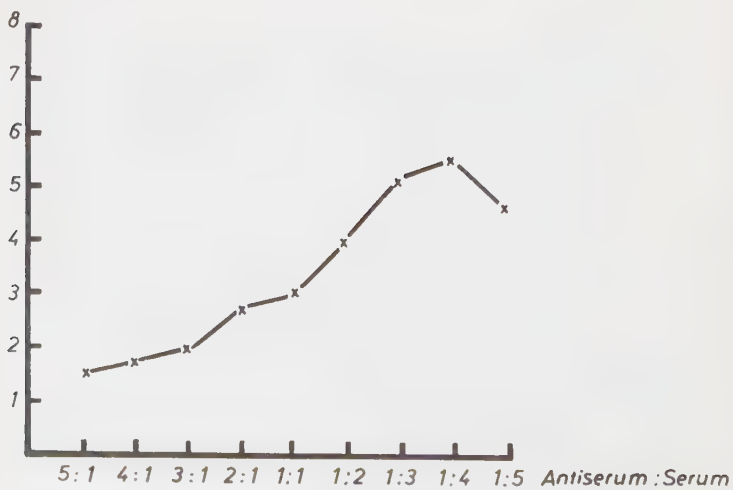


Abb. 4

„Immunokritwert“ mm Präzipitatsäule

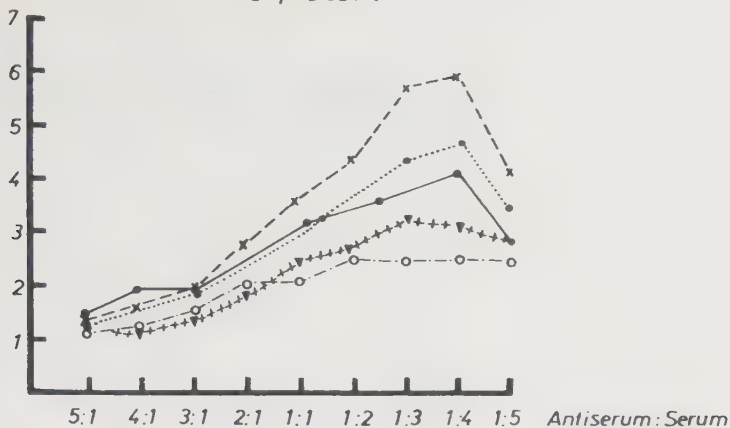


Abb. 5

„Immunokritwert“
mm Präzipitatsäule

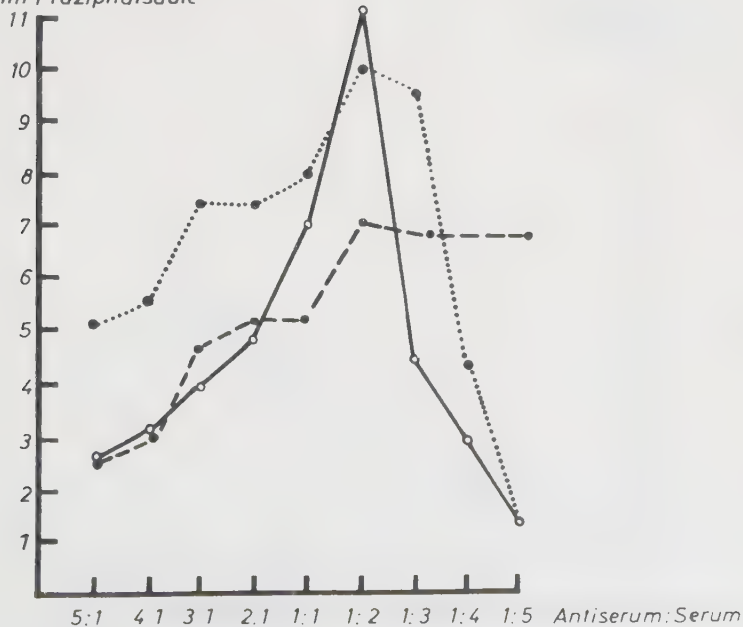
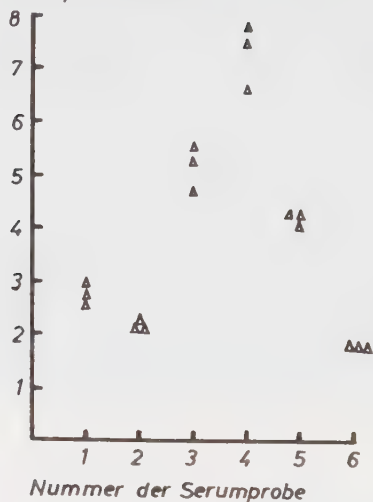
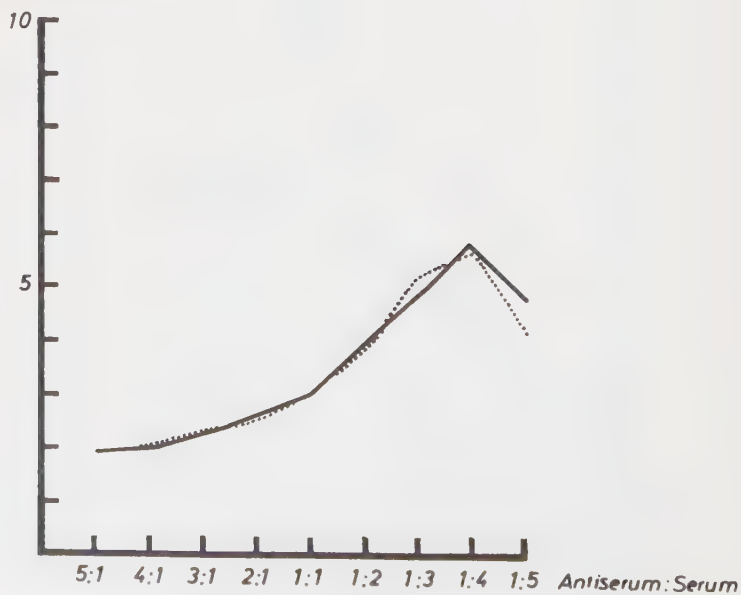


Abb. 6

„Immunokritwert“
mm Präzipitatsäule



„Immunokritwert“
mm Präzipitatsäule



Bor. Vol. 24 J. ♂

Fettbelastung (200 g Sahne)

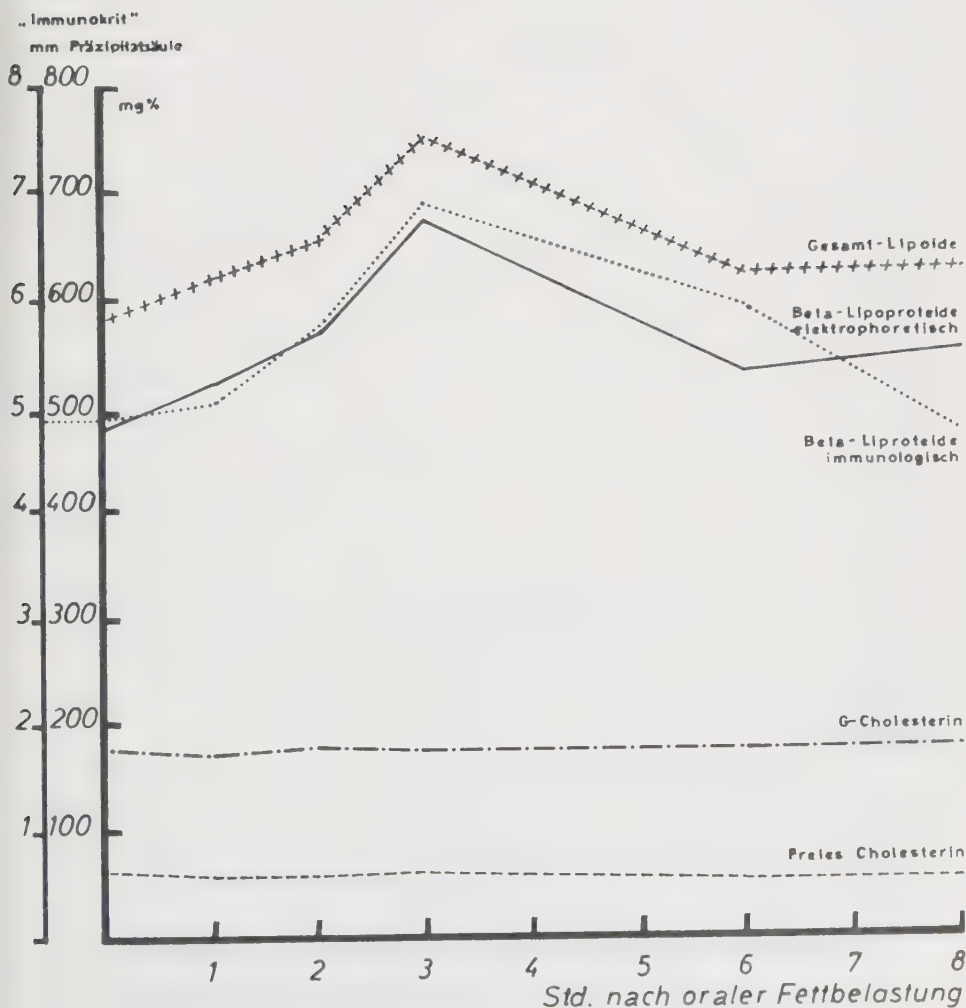
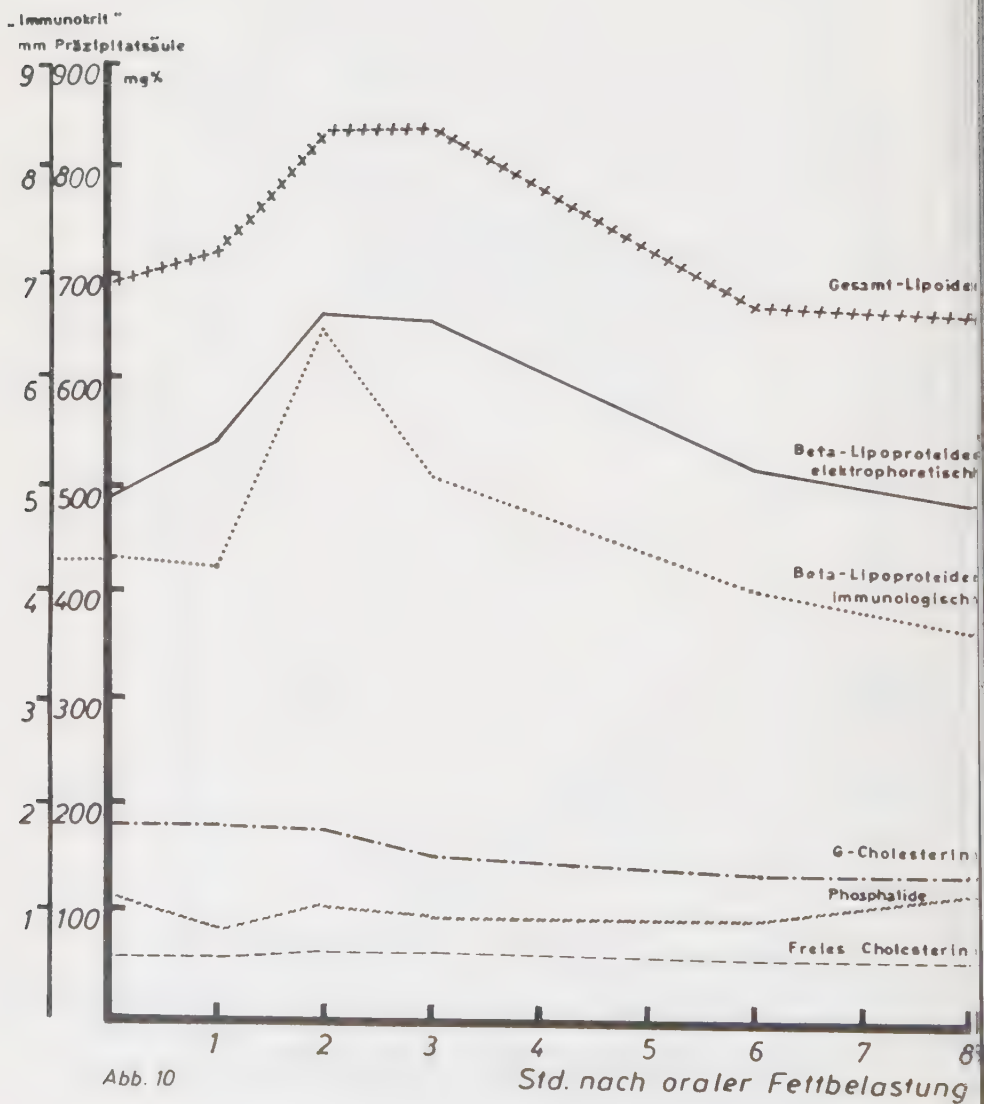


Abb. 9

Lam. Rol. 24 J. ♂

Fettbelastung (200g Sahne)



Bor. Vol. 23 J. ♂

Orale Fettbelastung mit 200g Sahne nach Injektion von 2000mg EPL-Substanz

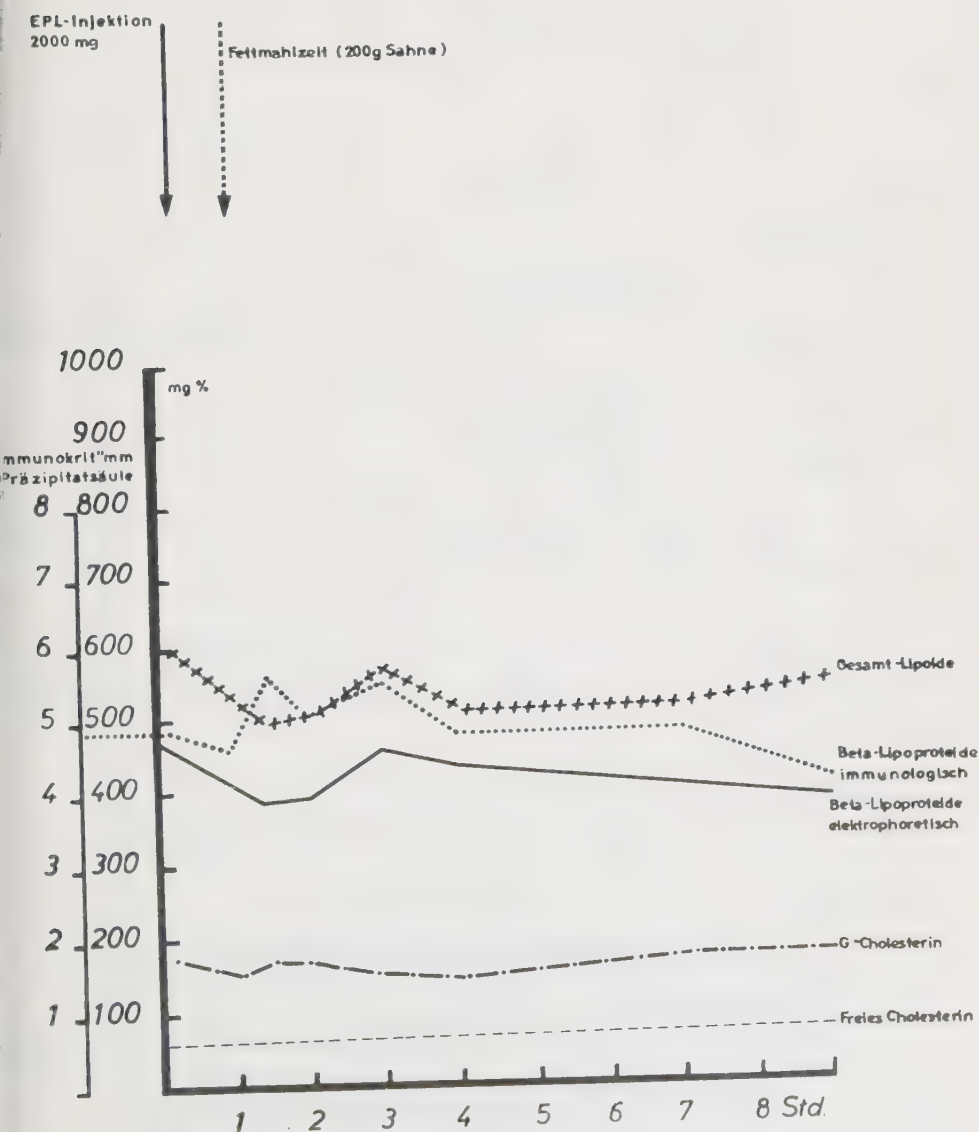


Abb. 11

Mat. Jut. 26 J. ♀

Orale Fettbelastung mit 200gr. Sahne und nachfolgende EPL-Injektion

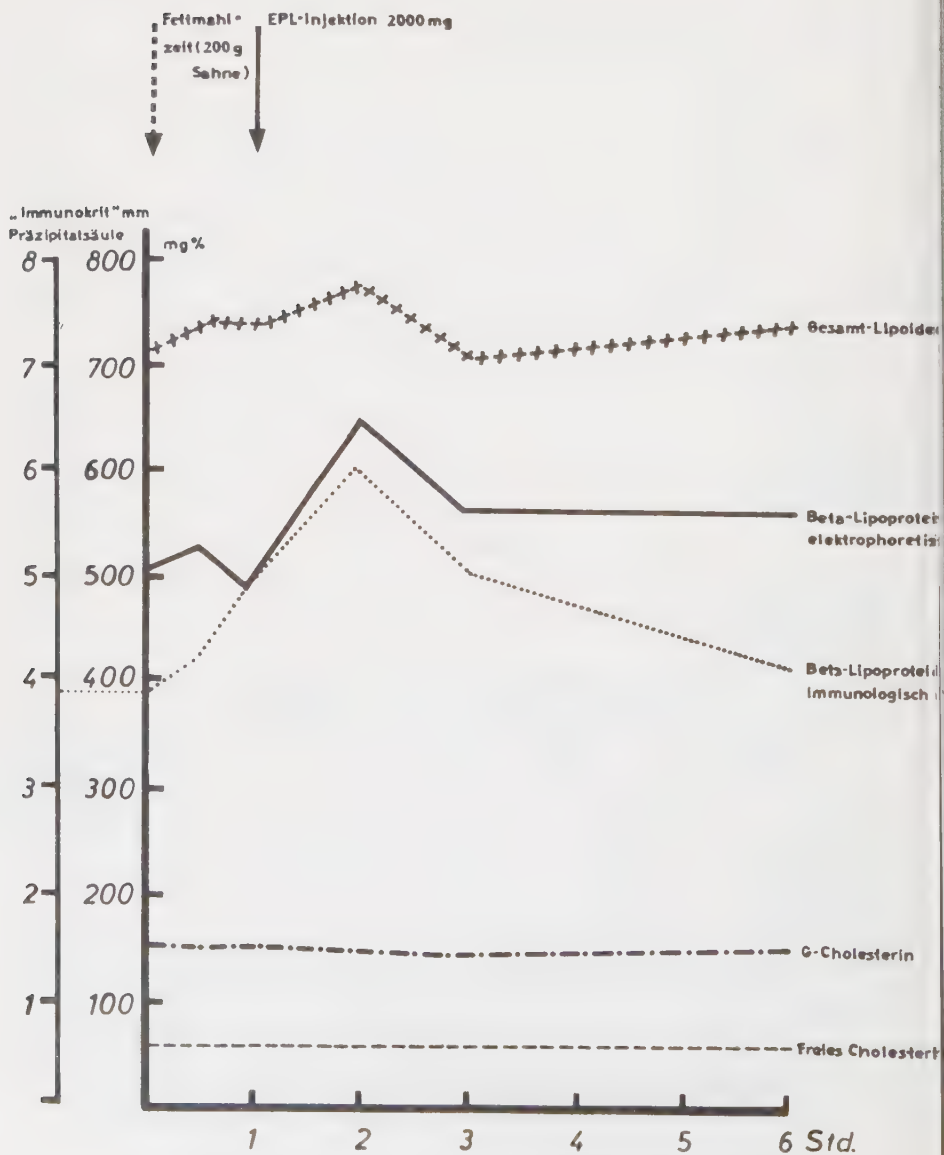


Abb 12

Immunokrit-Einheiten

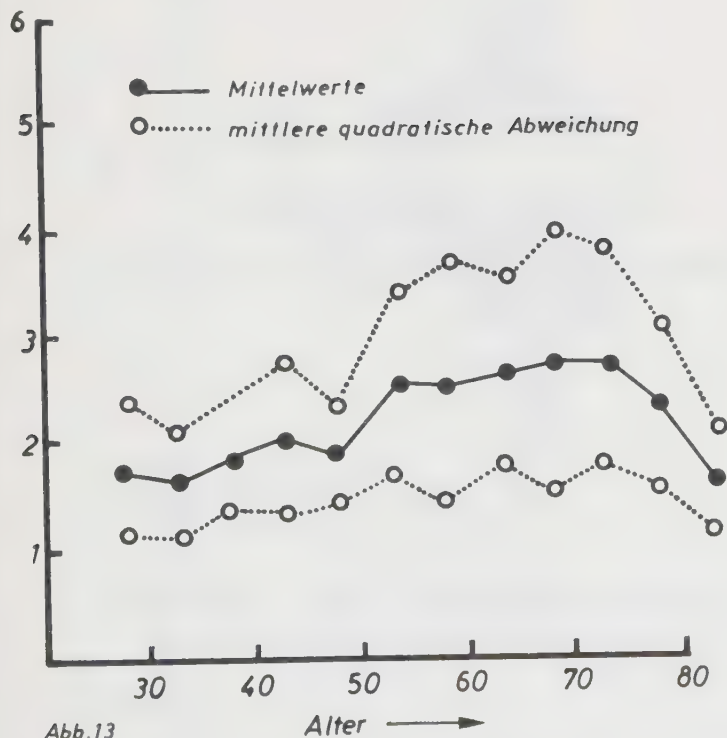


Abb.13

Alter →

Beta Lipoproteid Mittelwerte von Frauen in Abhängigkeit vom Alter.

„Immunokritwert“
mm Präzipitatsäule

FRAUEN

MÄNNER

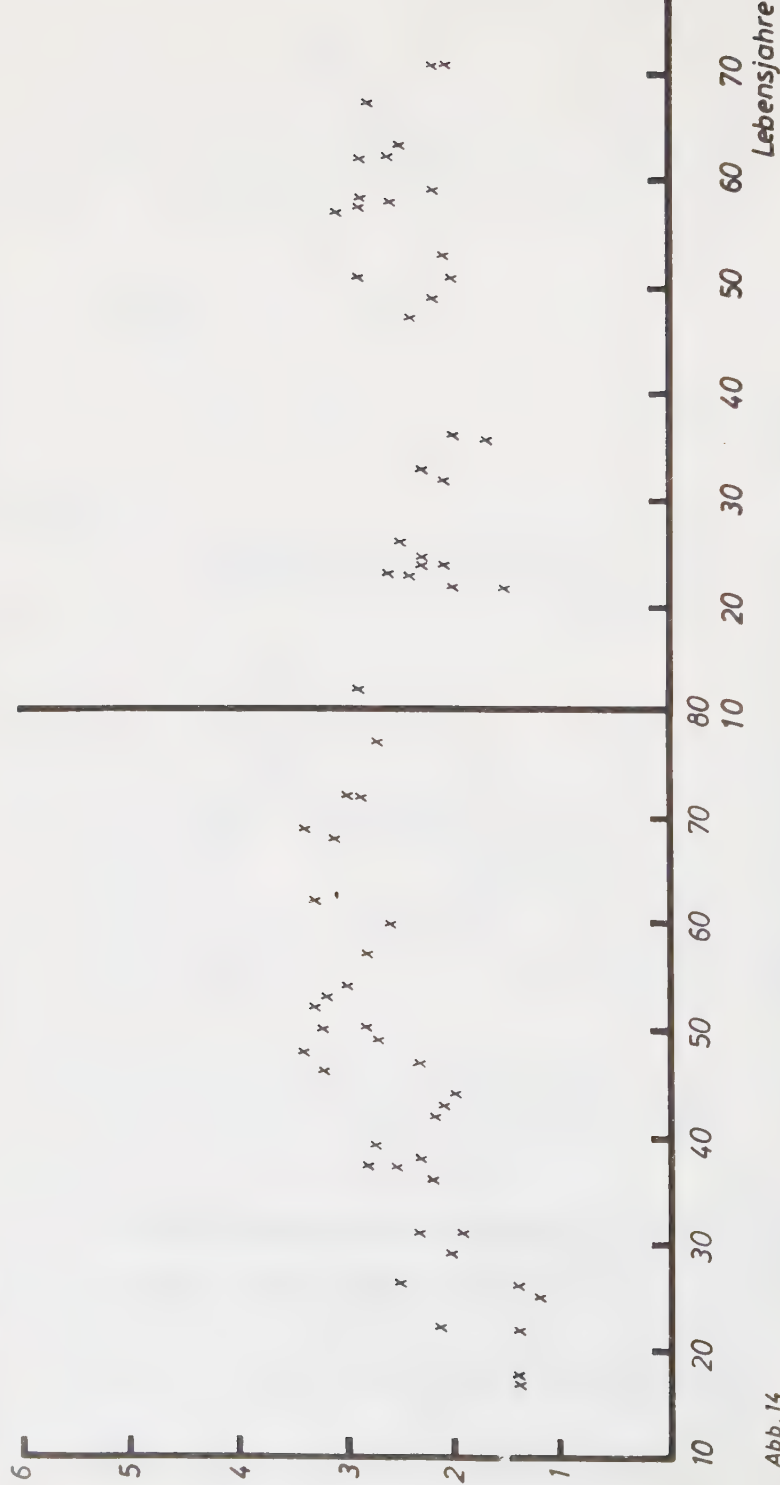
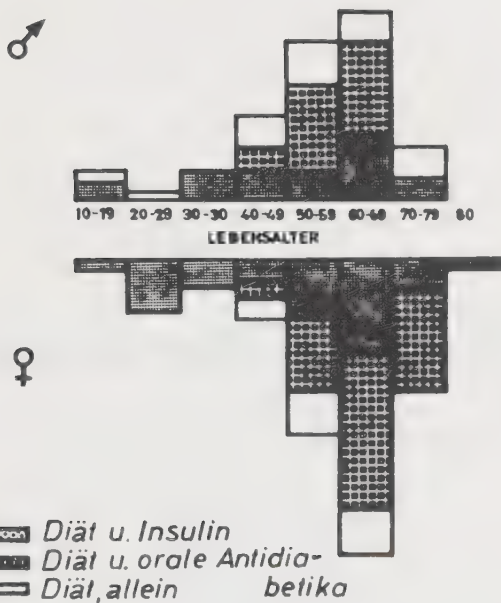


Abb. 14



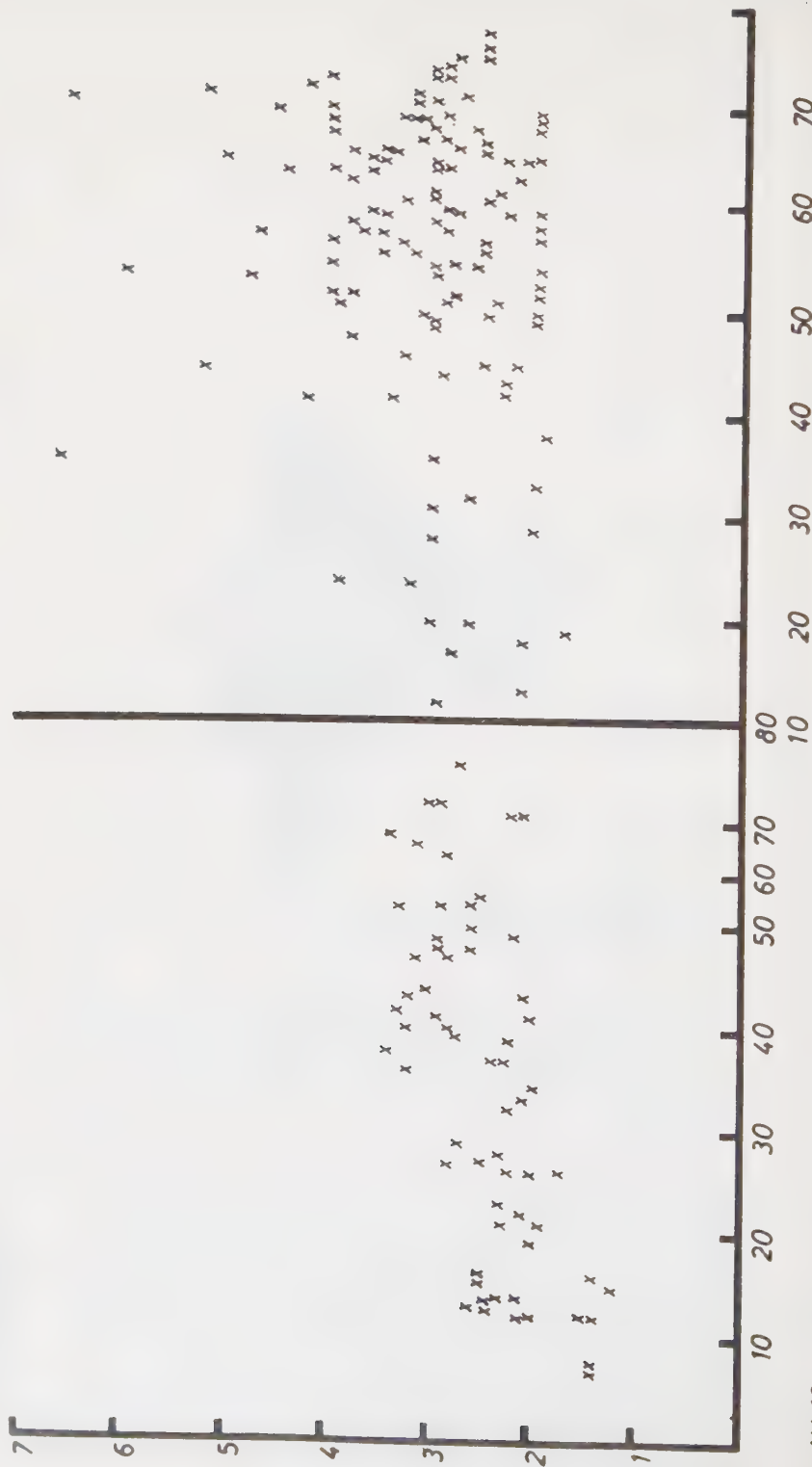
Alters - und Geschlechtsaufbau der untersuchten Diabetiker

Abb. 15

„Immunokritwert“
mm Präzipitatsäule

Klinisch Gesunde

Diabetiker

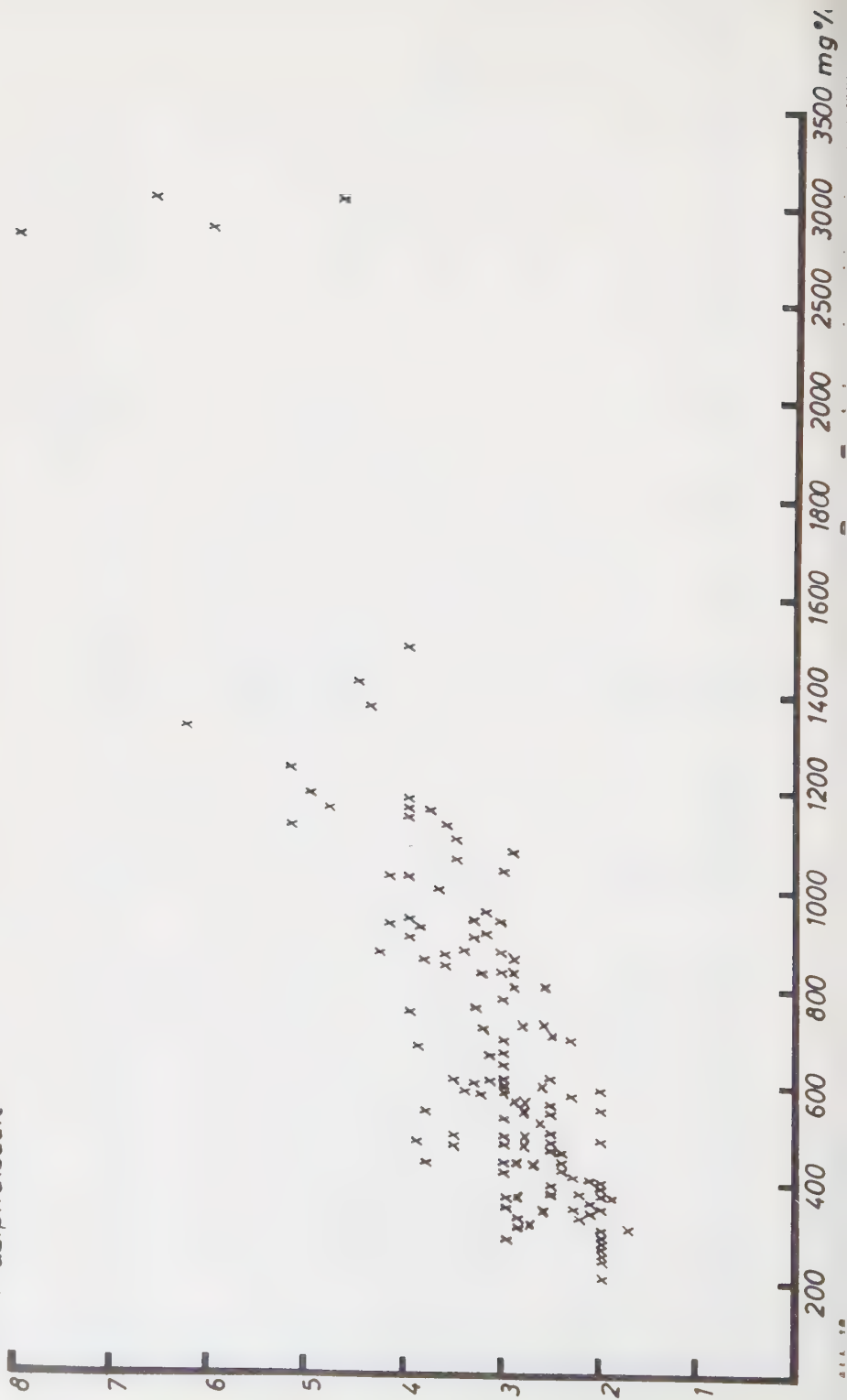


mm Präzipitatsäule



Abb. 17

„Immunokritwert“
mm Präzipitatsäule



mm P'razipitaisaue

x

x

x

8
7
6
5
4
3
2
1

200 400 600 800 1000 1200 1400 1600 1800 2000 2500 3000 3500
Gesamtlipoide
mg %

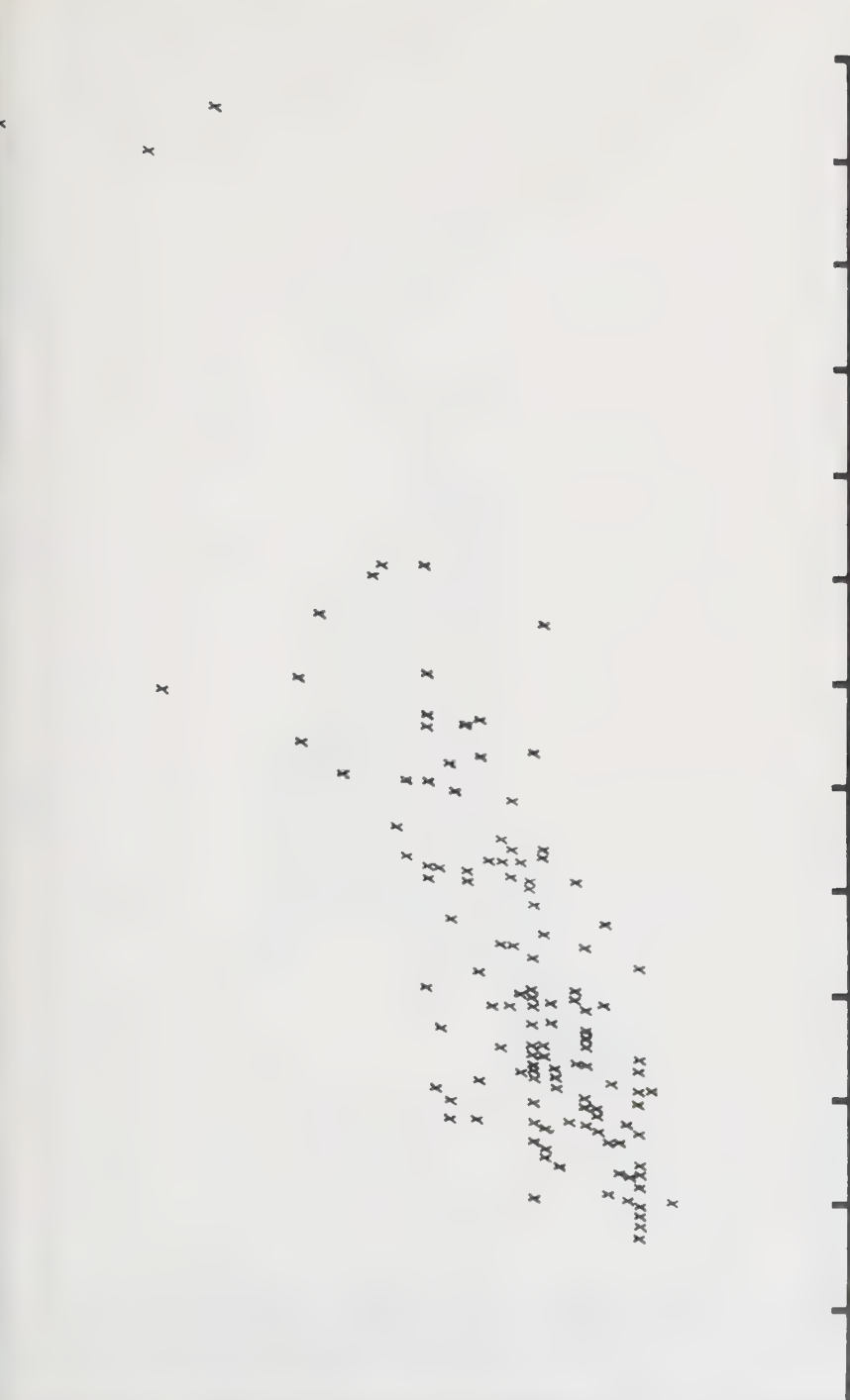
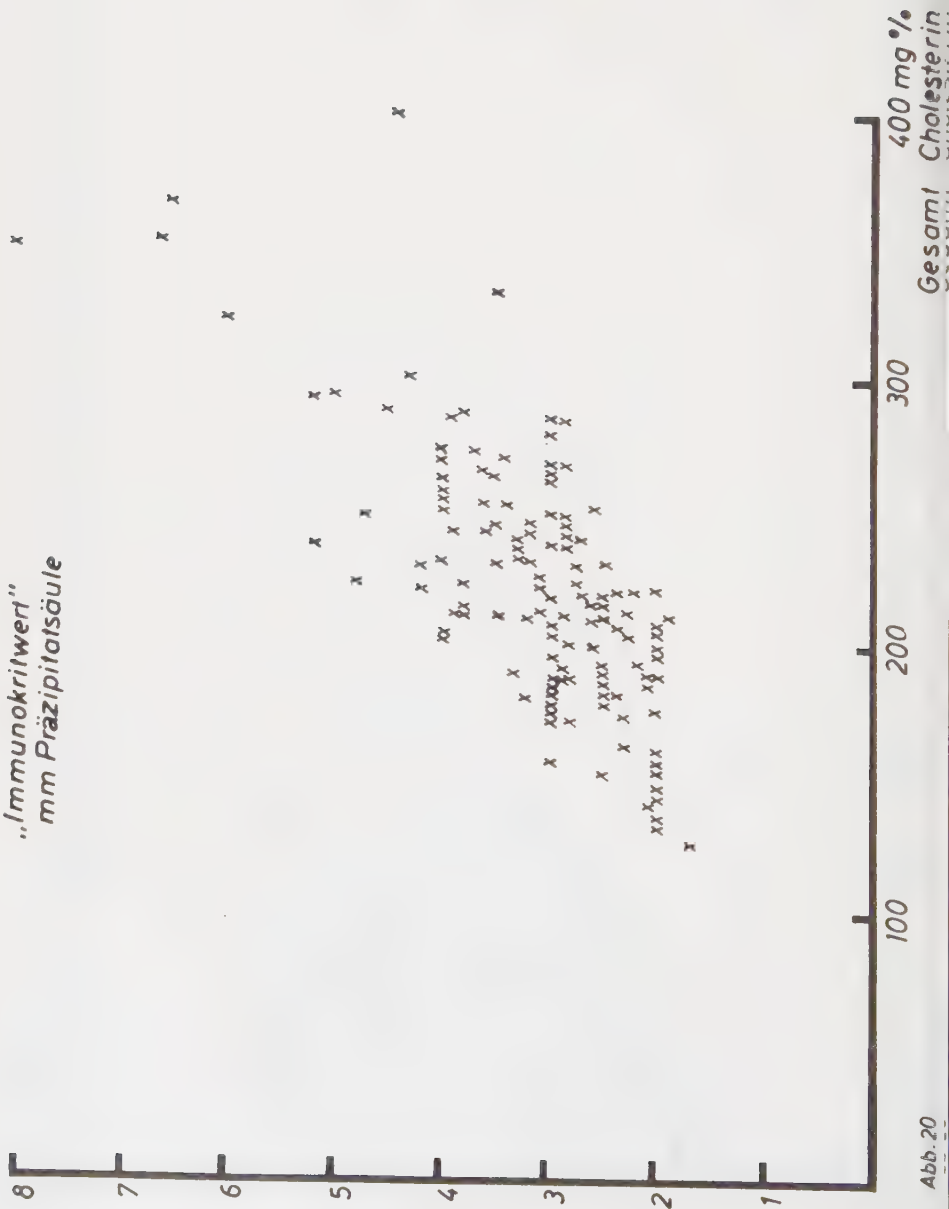


Abb. 19

„Immunokritwert“
mm Präzipitatsäule



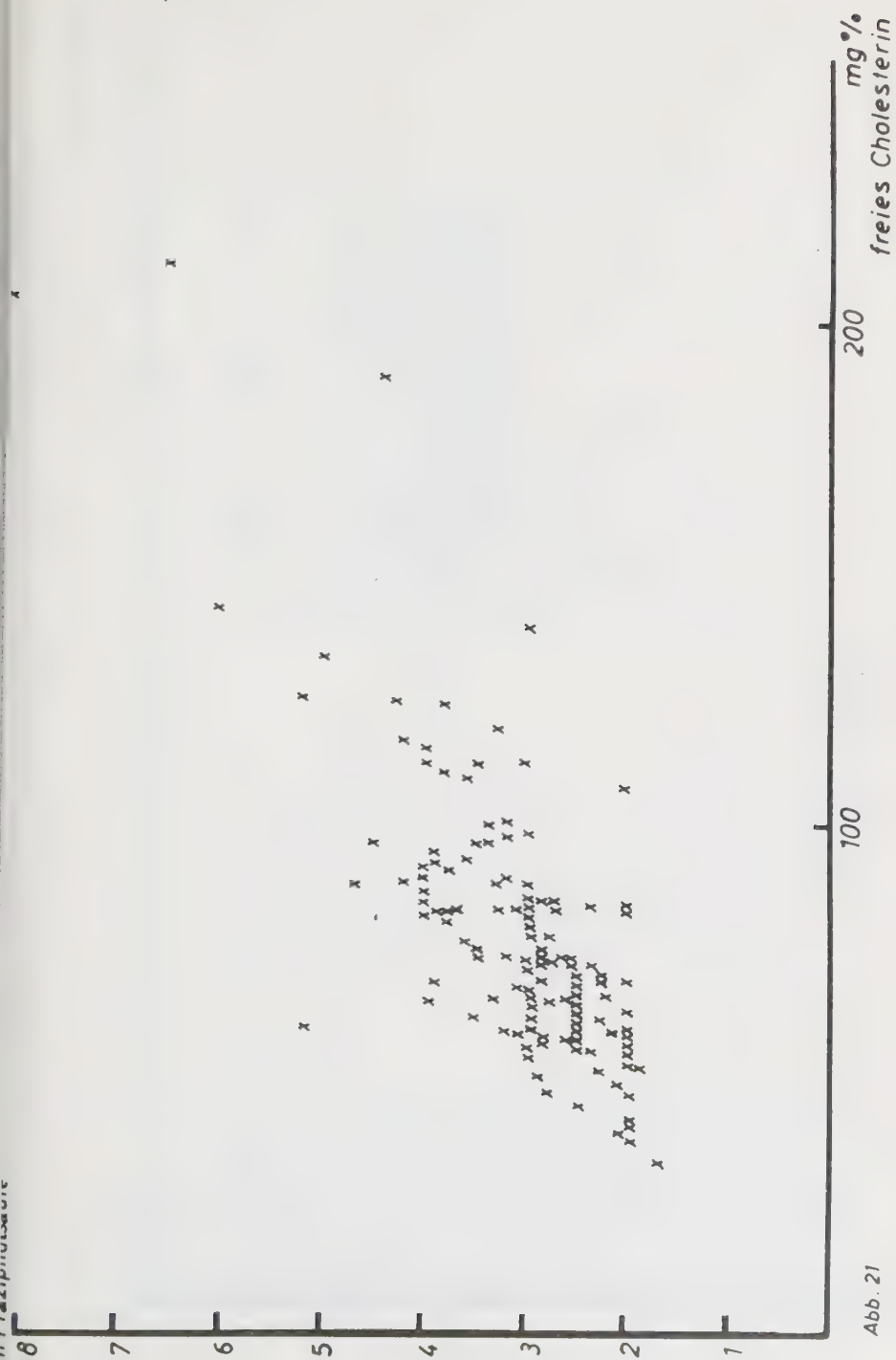
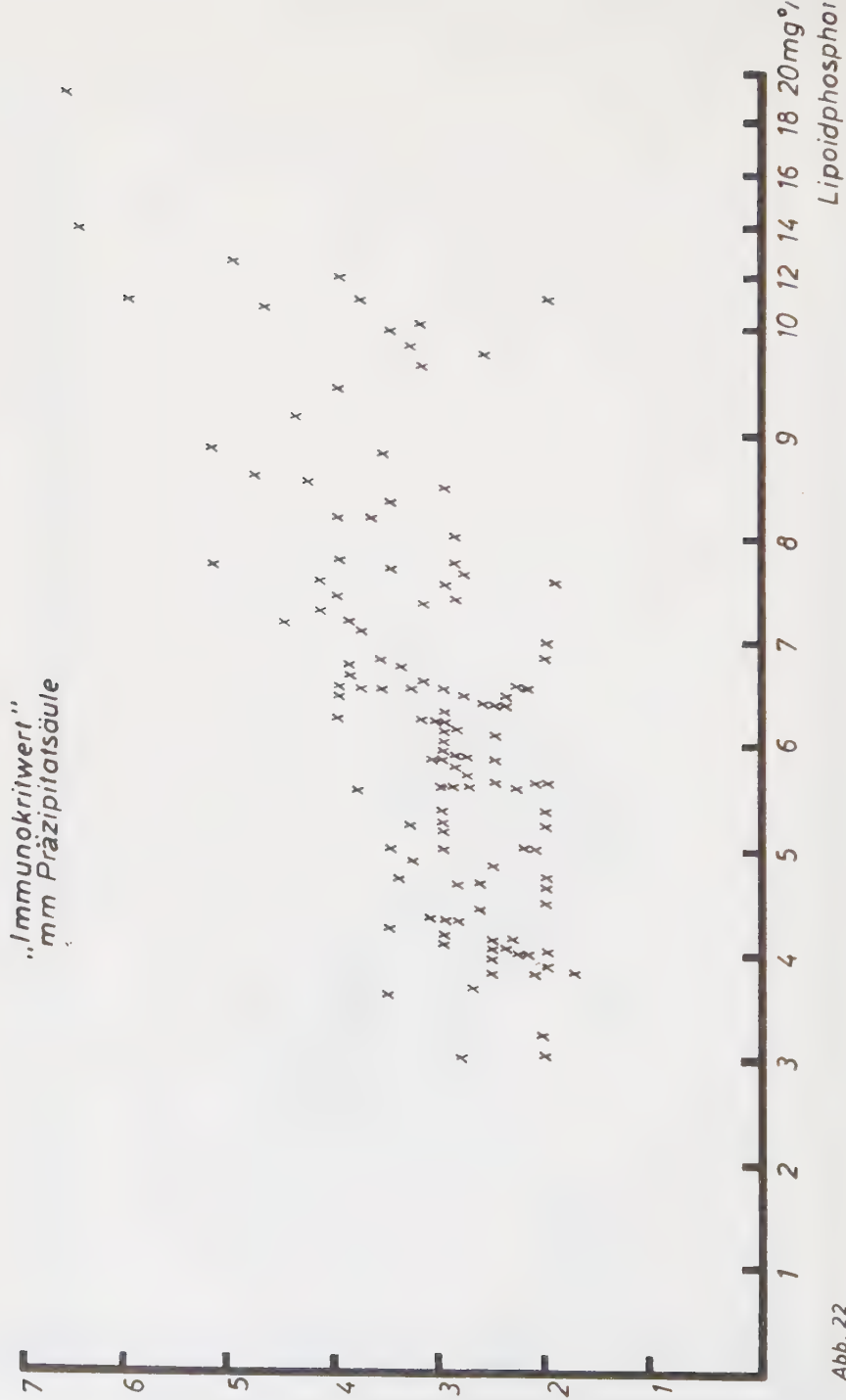


Abb. 21



*Elektrophoresen auf Filterpapier nach Färbung der Lipide mit
Ceresschwarz*

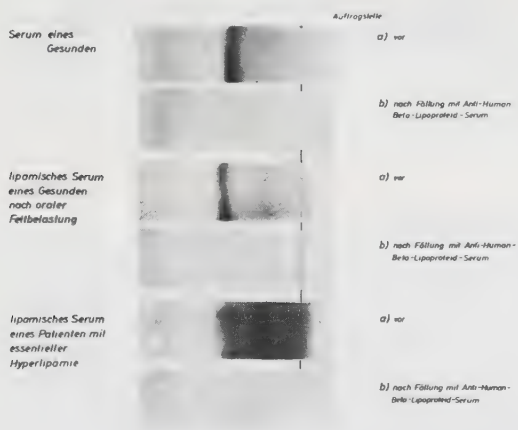
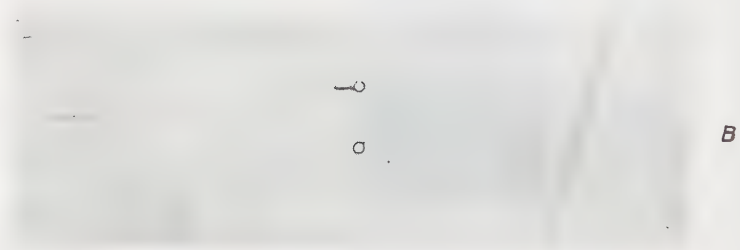


Foto 2



A

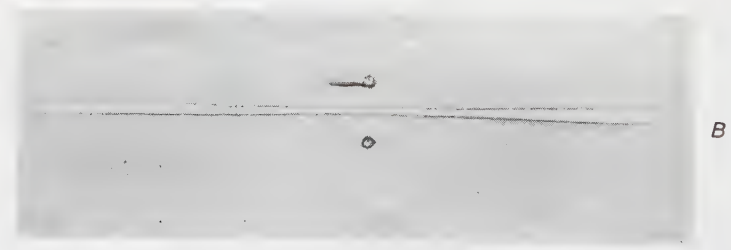


B

Foto 3



A



B

Foto 4

G) Literaturverzeichnis

1. Barach, J.H., und A.D. Lowy: Diabetes 1, 441 (1952)
2. Barr, D.P.: Protein-lipid relationships in plasma.
In: Tullis: Blood cells and plasma proteins.
Their state in nature, 382-391 New York,
Academic Press (1953)
3. Bergquist, L.M., V.P. Carroll
und R. L. Searcy: The Lancet, 537-538 (1961)
4. Bernfield, P., M.E. Berkowitz
und V.M. Dona Hue: J. Clin. Invest., 36, 1363 (1957)
5. Blix, G., A. Tiselius und Svensson: J. Biol. Chem., 137, 485 (1941)
6. Burstein, M., und J. Samaille: J. Physiol., Paris 49, 83-86 (1957)
7. Burstein, M.: Compt. Rend. Acad. Sci., 243, 527 (1956)
8. Carlson, L.A.: Clin. Chem. Acta, 5, 528 (1960)
9. Carlson, L.A. und L.B. Wadstöm: Clin. Chem. Acta, 2, 9 (1957)
10. Chaney, A.L., R.T. Fisk, K. Lou
und B. Cochran: Clin. Research, IX No. 1 (Jan. 1961)
11. Cohn, E.J., F.R.N. Gurd, D.M. J. Amer. Chem. Soc., 72, 465 (1950)
Surgenor, B.A. Barnes, R.K. Brown,
G. Berouaux, J.M. Gillespie, F.W.
Kahnt, W.F. Lever, C.H. Liu,
J. Mittleman, R.F. Mouton, K.
Schmid und E. Uroma:
12. Demanet, J.C., P.E. Gregoire
und P.A. Bastenie: Circulation 19, 863 (1959)
13. Eder, H.A., und E.M. Russ: J. Clin. Invest. 31, 626 (1952)
14. Ejarque, P., A. Marble und
E. Tuller: J. Med. 27, 221 (1959)
15. Engelberg, H., J.W. Gofman
und H.B. Jones: Diabetes 1, 434 (1952)
16. Fiske, C.H., und Y. Subbarow: J. Biol. Chem. 66, 375 (1925)
17. Florsheim, W.H., und M.E. Morton: Abstr. Intern. Conf. on Peaceful Uses
of Atomic Energy 10, 496 (1955) Geneva
18. Gofman, J.W., H.B. Jones, F.T. Circulation 2, 161 (1950)
Lindgren, T.P. Lyon, H.A. Elliot,
und B. Strisower:
19. Gofman, J.W., H.B. Jones, T.P. Circulation 5, 119 (1952)
Lyon, F.T. Lindgren, B. Stris-
ower, D. Colman und V. Herring:

20. Gofman, J.W., F. Glacier, A. Tamplin, B. Strisower und O. de Lalla: *Physiol. Rev.* 34, 589 (1954)
21. Gofman, J.W., L. Rubin, J.P. Mc Ginley und H.B. Jones: *Amer. J. Med.* 17, 514 (1954)
22. Gofman, J.W., F.T. Lindgren und H. Elliot: *J. Biol. Chem.*, 179, 973 (1949)
23. Grant, W.C., und H. Berger: *Proc. Soc. exp. Biol.* 86, 779 (1954)
24. Guravich, J. L.: *Amer. J. Med.* 26, 8 (1959)
25. Heiskell, C. L., R. T. Fisk, W. H. Florsheim, A. Tachi, J. R. Goodman, C. M. Carpenter: *Amer. J. Clin. Path.*, Vol. 35, No. 3, 222-226 (März 1961)
26. Heiskell, C. L., A. Yachi, H. J. Aldrich, C. M. Carpenter: *J. Amer. Med. Assoc.* Vol. 176, 585-587 (Mai 1961)
27. Hollister, L. E., und S. L. Kanter: *Gastroenterology* 29, 1069 (1955)
28. Keiding, D. N., G. V. Mann, H. F. Root, E. Y. Lowry und A. Marble: *Diabetes* 1, 434 (1952)
29. Krainick, H. G.: *Klin. Wschr.* 17, 706 (1938)
30. Kunkel, H. G.: *J. Clin. Invest.* 31, 677 (1952)
31. Kunkel, H., und R. Trautmann: *J. Clin. Invest.* 35, 641 (1956)
32. de Lalla, O., und J. W. Gofman: Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins, U.C.R. L. 2427 Berkeley: University of California (1953)
33. de Lalla, O., und J. W. Gofman: *in: Meth. Biochem. Anal.* 1, 455 (1954)
34. Lawry, E. Y., u. a.: *Amer. J. Med.* 22, 605-623 (1957)
35. aus Lehnartz, E.: *Einführung in die chemische Physiologie*, S. 82 (1959)
36. Leupold, F., und H. Büttner: *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 305, 269 (1956)
37. Lewis, B., und I. H. Page: *Circulation* 7, 707 (1953)
38. Lindgren, F. T., A. V. Nichols, Th. Hayes, N. K. Freeman und J. W. Gofman: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 72, 826, (1959)
39. Macheboeuf, M. A.: *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 11, 268 (1929)
40. Mohnike, G.: *Intern. Praxis*, Heft 1, S. 101 (1963)
41. Nerking, J.: *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, 85, 330 (1901)
42. Nikkilä, E.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 5, Suppl. 8 (1953)

43. Olson, R. E., und J. W. Vester: *Physiol. Rev.* 40, 677 (1960)
44. Oncley, J. L., K. W. Walton und D. G. Cornwell: *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 4666 (1957)
45. Oncley, J. L.: Plasma Lipoproteins - p. 114 In: Page, I. H.: *Chemistry of lipids as related to atherosclerosis*. Springfield/Ill: Charles C. Thomas Publ. (1958)
46. Pearson, S., S. Stern und T. H. Mc Gavack: *Anal. Chem.*, 25, 813-814 (1953)
47. Pederson, K. O.: Ultracentrifugal Studies of Serum and Serum Fractions, Uppsala: Almquist and Wiksell (1945)
48. Per Ekwall: Solubilisation of lipophilic substances by proteinassociation colloid complexes, p. 120. In: Popjak, G., and E. le Breton: *Biochemical problems of lipids*. London: Butterworth Scientific Publ. (1956)
49. Pezold, F. A., O. F. de Lalla und J. W. Gofman: *Clin. Chem. Acta* 2, 43 (1957)
50. Pratt, H. M.: *Fed. Proc.* 11, 270 (1952)
51. Riva, G.: *Das Serumweißbild*, S. 262 (1960)
52. Russ, E. M. und H. A. Eder: *Amer. J. Med.* 11, 480 (1951)
53. Schettler, G.: *Zeitschr. klin. Chem.*, Heft 1, 6 - 13 (1963)
54. Searcy, R. L., T. M. Asher und L. M. Bergquist: Evaluation of a technique for measuring beta lipoproteins as an immunoprecipitate
55. Shore, B.: *Arch. Biochem.* 71, 1 (1957)
56. Shore, B., und V. G. Shore: *Plasma (Milano)* 2, 621 (1954)
57. Swahn, B.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 4, 82 (1952)
58. Swahn, B.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 4, 247-248 (1952)
59. Uriel, J., und P. Grabar: *Bull. Soc. Chim. Biol. (Paris)* 38, 1253 (1956)
60. Walton, K. W. und S. J. Darke: Immunological characteristics of human low density lipoproteins and relation to lipoproteins of other species
In: *Protides of the Biological Fluids 10th Colloquium* 1962

61. Zak, B., R. C. Dichenman,
E.G. White, H. Burnett und
P.J. Cherney:
Amer. Clin. Path., Vol. 24 (1954)
62. Zlatkis, A., B. Zak
und A.J. Boyle:
J. Laborat. Clin. Med., S. Louis 41,
486 (1953)
63. Zöllner, N.:
Dtsch. med. Wschr. 448 (1958)
64. prepared by Th. Asher:
Beta-L-Test, First Technical Report
(Sept. 1961)

Zu besonderem Dank bin ich Herrn Privatdozent Dr. Knedel verpflichtet für die Überlassung der Dissertation und für seine tatkräftige Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Schwiegk danke ich für die Übernahme der Korreferenz.

Die Möglichkeit von Untersuchungen an Patienten der Diabetikerambulanz der Universitätspoliklinik verdanke ich Herrn Privatdozent Dr. Mehnert.

Der med.-technischen Assistentin Fräulein Jutta Matzke sage ich herzlichen Dank für die Einführung in die Laboratoriumstechnik und für die Bestimmungen des Lipoidphosphors.

LEBENS LAUF

Am 9. 4. 1939 wurde ich als zweiter Sohn des kaufmännischen Angestellten Max-Egon Borck und seiner Frau Ilse, geborene Meybauer, in Berlin-Friedenau geboren.

Das Kriegsende und die sowjetische Besatzung erlebte unsere Familie in der märkischen Stadt Jüterbog. Dort wurde ich im Herbst 1945 in die Volksschule aufgenommen.

Im Jahre 1947 starb mein Vater nach langem Kranksein.

Meiner Mutter gelang es drei Jahre später, eine Anstellung im Bonner Innenministerium zu finden, so daß wir nach Westdeutschland übersiedeln konnten. In Bad Godesberg wurde ich Schüler des Staatlichen Nicolaus Cusanus Gymnasiums, an dem ich im Frühjahr 1959 das Abitur bestand.

Mit dem Sommersemester desselben Jahres begann ich das medizinische Studium an der Rheinischen Friedrich Wilhelms-Universität in Bonn. Zum vierten Semester schrieb ich mich als Hörer der Ludwig Maximilians-Universität in München ein. Hier bestand ich nach dem Sommer-Semester 1961 das Physikum. Alle sechs klinischen Semester belegte ich ebenfalls in München. Im Februar 1965 schloß ich das Studium mit dem Staatsexamen ab.

Als Medizinalassistent habe ich zunächst vier Monate chirurgisch am Städtischen Krankenhaus Bamberg unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Löffler gearbeitet. Anschließend war ich für fünf Monate an der Staatlichen Frauenklinik in Bamberg bei Herrn Privatdozent Dr. Krone. Anfang Januar 1966 habe ich eine Medizinalassistentenstelle an der Kinderklinik "St. Elisabeth" in Neuburg an der Donau angetreten.

Im März 1965 heiratete ich die med.-technische Assistentin Elisabeth Schmidt-Richberg. Seit Januar dieses Jahres haben wir einen Sohn.

...the
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..



